IN VIVO-WIRKUNGEN EINER PYRIDOXYLIERTEN STROMAFREIEN HÄMOGLOBINLÖSUNG

Jonny Hobbhahn

1979

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. Brendel)
Klinikum Großhadern der Universität München

IN VIVO-WIRKUNGEN EINER PYRIDOXYLIERTEN STROMAFREIEN HÄMOGLOBINLÖSUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Jonny Hobbhahn aus München

1979

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Brendel, Prof. Dr. Meßmer
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Duhm
Dekan:	Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 2. 10. 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meiner Frau und meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	EINLEITUNG	1
B.	METHODIK	3
	Versuchstiere	3
	Operatives Vorgehen	3
	Messungen	5
	Berechnungen	7
	Versuchsablauf	9
	Postoperative Beobachtungen und Messungen	10
	Die Hämoglobinlösungen und ihre Herstellung	11
	Gruppeneinteilung	12
C.	ERGEBNISSE	13
1.	In v i t r o Analyse der stromafreien Hämoglobinlösungen	13
2.	In v i v o Ergebnisse	14
2.1.	Veränderungen des Hämatokrit und der Hämoglobinkonzentration in Vollblut und Plasma	15
2.2.	Hämodynamische Veränderungen	18
2.3.	Sauerstoffversorgung der Versuchstiere	24
2.4.	Elektrolyte und kolloidosmotischer Druck	39
2.5.	Säure-Basenstatus, Bilirubin und Kreatinin	42
3.	Gewebeveränderungen	45

Seite

D. DISKUSSION 48

1. Kriterien für die Wirksamkeit von kolloidalen Blutersatzlösungen und die theoretischen Vorteile von stromafreien Hämoglobinlösungen 48

2. Die Auswirkungen stromahaltiger und stromafreier Hämoglobinlösungen auf die Nierenfunktion 49

3. Volumenwirksamkeit 57

3.1. Wasserbindungskapazität 57

3.2. Intravasale Verweildauer von SFH- und SFH-PLP-Lösungen 57

3.2.1. Ursache der kurzen HWZ von SFH- und SFH-PLP-Lösungen 61

3.2.2. Elimination des freien Hämoglobins aus dem Intravasalraum

3.3. Kolloidosmotischer Druck 63

3.4. Ausmaß der Hypovolämie nach Hämodilution mit SFH- und SFH-PLP-Lösungen 64

3.5. Korrelation zwischen Hypovolämie und Überlebensrate nach extremer und limitierter Hämodilution mit SFH-Lösungen 65

4. O_2-Affinität 68

4.1. Ursachen für die hohe O_2-Affinität von konventionellen SFH-Lösungen 69

4.1.1. Verminderung der 2,3-DPG-Konzentration 69

4.1.2. Unterschied zwischen Plasma- und Erythrozyten-pH 70

4.1.3. Methämoglobinbildung 70

4.1.4. Hämoglobinkonzentration 72

4.2. Der Bohrkoeffizient von SFH-Lösungen 72

4.3. Verringerung der O_2-Affinität von SFH-Lösungen durch Erhöhung der 2,3-DPG-Konzentration 73

4.4. Verringerung der O_2-Affinität von SFH-Lösungen durch die Pyridoxylierung des Hämoglobins 74

Seite

5. Hämodynamik 75

5.1. Verhalten des arteriellen Druckes 75
5.2. Herzzeitvolumen 76
5.3. Peripherer Gesamtströmungswiderstand 80
5.4. Verhalten des pulmonalen Kreislaufs 81

6. O_2-Versorgung der Gewebe 82

6.1. Die O_2-Bindungskapazität von freiem Hämoglobin 82
6.1.1. In vitro-Ergebnisse 82
6.1.2. In vivo-Ergebnisse 82
6.2. Sauerstofftransportkapazität nach Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösungen 84
6.3. Beeinflussung der O_2-Bindungskurve von Vollblut durch SFH-Lösung mit niedrigen und hohen 2,3-DPG-Konzentrationen, sowie durch SFH-PLP. 86
6.3.1. In vitro-Ergebnisse 86
6.3.2. In vivo-Ergebnisse 87
6.4. O_2-Aufnahme, arteriovenöse Sättigungsdifferenz ($AVDO_2$) und zentralvenöser pO_2 nach dem Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösung 92
6.5. Die Auswirkungen von konventioneller SFH- und SFH-PLP-Lösung auf die O_2-Versorgung der Gewebe 93

7. Säure-Basenhaushalt 97

8. Bilirubinstoffwechsel 99

9. Pathologisch-anatomische Veränderungen 100

9.1. Leber 100
9.2. Lungen 102
9.3. Nieren und Herz 103

10. Ausblick 104

E. ZUSAMMENFASSUNG 106

F. LITERATURVERZEICHNIS 109

A. EINLEITUNG

Stromafreie Hämoglobinlösungen weisen mehrere überzeugende theoretische Vorteile auf, die einen klinischen Einsatz als Volumenersatzmittel gerechtfertigt erscheinen lassen würden. Sie können aus überalterten, bisher verworfenen Erythrozyten hepatitissicher hergestellt und - im Gegensatz zu Konservenblut - nahezu unbegrenzt gelagert werden. Durch vollständiges Entfernen der Stromata entfällt theoretisch das Problem der Typisierung und Sensibilisierung, da Membranstrukturen und Antigendeterminanten fehlen. Gegenüber heute klinisch gebräuchlichen Plasmaersatzmitteln besitzen sie den großen Vorteil der Sauerstofftransportfunktion.

Trotz all dieser theoretischen Vorteile haben stromafreie Hämoglobinlösungen jedoch bisher wegen ihrer potentiellen Nephrotoxicität und der geringen Volumenwirksamkeit keine klinische Verwendung gefunden. Einen weiteren, schwerwiegenden Nachteil stellt auch die, mit dem Verlust der Erythrozytenmembran einhergehende Zunahme der Sauerstoffaffinität von stromafreiem Hämoglobin dar, die zur Folge hat, daß Sauerstoff aus Plasmahämoglobin nur bei extremer Hypoxie und/oder Anämie an die Gewebe abgegeben wird. Ein therapeutisch sinnvoller Einsatz von stromafreien Hämoglobinlösungen ist aber nur vertretbar, wenn die O_2-Affinität in den Bereich von Vollblut reduziert werden kann.

CHANUTIN und CURNISCH (31) sowie BENESCH und BENESCH (8) vermochten die hohe O_2-Affinität von stromafreiem Hämoglobin (= SFH) in vitro durch die Bindung von Pyridoxal-Phosphat (= PLP) an das N-terminale Valin der β-Ketten zu senken und in vitro eine dem intraerythrozytären Hämoglobin vergleichbare O_2-Abgabecharakteristik ihres pyridoxylierten SFH (= SFH-PLP) zu erreichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, pyridoxyliertes SFH (= SFH-PLP) niederer O_2-Affinität in vivo hinsichtlich hämodynamischer Wirksamkeit und Sauerstofftransportfunktion mit konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität zu vergleichen.

Insbesondere sollte untersucht werden, inwieweit die Pyridoxylierung von SFH in vivo eine Verbesserung der O_2-Abgabecharakteristik bewirkt. Dabei sollte quantifiziert werden, in welchem Ausmaß SFH-PLP und

konventionelles SFH zur O_2-Versorgung des Organismus beizutragen vermögen. Weiterhin sollte mittels Platinmehrdrahtelektrode nach KESSLER und GRUNEWALD (90) eine Aussage darüber gemacht werden, ob SFH-PLP auf Grund seiner niederen O_2-Affinität eine bessere O_2-Versorgung des M. sartorius bewirkt als konventionelle SFH-Lösung hoher O_2-Affinität.

B. METHODIK

Die Versuche wurden in der Zeit von Mai bis November 1975 im Institut für Chirurgische Forschung an der Chirurgischen Universitätsklinik München durchgeführt.

Versuchstiere:
Verwendet wurden 14 mehrere Wochen vorher splenektomierte, normal hydrierte Bastardhunde beiderlei Geschlechts mit einem mittleren Körpergewicht von 14,8 ± 1,1 kg.

Operatives Vorgehen:
Die Tiere wurden mit 1 ml Atropin[x], 0,003 mg/kg KG Fentanyl und 0,02 mg/kg KG Droperidol[xx] i.m. praemediziert. Als Narkose erhielten sie 25 mg/kg KG Pentobarbital-Natrium[xxx] i.v. Nach Fixation in Rückenlage wurden sie endotracheal intubiert, mit Succinyldicholin[xxxx] relaxiert und über eine Starling-Pumpe künstlich mit einem Luftsauerstoffgemisch mit einer Sauerstoffkonzentration von ca. 30% beatmet.
Die Einstellung von Atemvolumen und -frequenz an der Starling-Pumpe erfolgte so, daß die mit einem URAS gemessene endexspiratorische CO_2-Konzentration bei 4 Vol% lag. Nach Abklingen der Succinyldicholinwirkung (10. - 60. Minute nach Austauschende) atmeten die Tiere während des weiteren Versuchsablaufs spontan.
Zur Entnahme arterieller Blutproben, zur Messung des arteriellen Mitteldrucks mittels Stathamelement sowie zur Entblutung wurde unter sterilen Kautelen die linke A. femoralis freipräpariert und ein PVC-Katheter in die Aorta abdominalis eingeführt. Für die Dextran- und Hämoglobininfusion wurden die beiden Vv. femorales kanüliert. Zur Messung des Drucks in der A. pulmonalis und des Lungenkapillarverschlußdrucks wurde unter Röntgenkontrolle ein SWAN-GANZ-Ballon-Katheter (165) über die rechte V. jugularis in die A. pulmonalis vorgeschoben. Ferner wurden unter Röntgenkontrolle eine Temperatursonde über die linke A. carotis in die Aorta ascendens

---

x Atropin sulfr., Dr. Fresenius, Homburg v. d. Höhe
xx Thalamonal[R], Janssen GmbH, Düsseldorf
xxx Nembutal[R], Abbott GmbH, Ingelheim a. Rh.
xxxx Lysthenon[R], Lentia GmbH, München

und ein PVC-Katheter über die linke V. jugularis in den rechten Vorhof zur Messung des Herzzeitvolumens, des rechten Vorhofdruckes und zur venösen Blutentnahme eingeführt.
Die Faszie des rechten m. sartorius wurde in einem Bereich von ca. 1 cm Durchmesser sorgfältig abpräpariert und eine Platinmehrdrahtoberflächenelektrode nach KESSLER und LÜBBERS (89) zur Messung der lokalen Sauerstoffpartialdrucke aufgesetzt. Um thrombotische Verlegungen der Katheter zu vermeiden, wurden 3 mg/kg KG Heparin[x] in physiologischer Kochsalzlösung i.v. injiziert. Ferner wurde fortlaufend die 2. Extremitätenableitung des EKG über Stichelektroden auf einem Monitor registriert.
Nach Beendigung der operativen Eingriffe wurde der meist negative Base Excess (BE) durch Natriumbicarbonat[xx] nach der Formel BE x 0,3 x KG auf Normalwerte eingestellt. Nach einer ungefähr halbstündigen Kontrollperiode wurden die Ausgangswerte gemessen.

---

x Heparin-Novo^{R} , Novo-Industrie GmbH, Mainz

xx 8,4 % Natriumbicarbonat, Fa. B. Braun, Melsungen AG

Messungen:

1. Arterieller Mitteldruck (MAP) und mittlerer rechter Vorhofdruck (RAP) mittels Stathamelementen (Statham Laborat. Inc. Hato Rey, Puerto Rico)

2. Mitteldruck in der A. pulmonalis (PAP) und mittlerer Lungenkapillarverschlußdruck (PCWP). (SWAN-GANZ Ballon-Katheter, Edward Laboratories, Santa Ana, California; Stathamelement)

3. Herzfrequenz (Herz- und Pulsfrequenzmonitor, Mela-GmbH, München)

4. Herzzeitvolumen (HZV) (Thermodilutionsprinzip, August Fischer KG, Göttingen)

5. Arterieller Hämatokrit (Mikrohämatokritzentrifuge 5 min bei 5000 U/min, Heparinised Tubes von Hawkley and Sons Limited, London; Mikrozentrifuge, Hettich, Tuttlingen)

6. Arterielle Hämoglobinkonzentration im Vollblut und Plasma (Cyan-Hämiglobinmethode, photometrisch, Photometer Eppendorf)

7. Zentralvenöser pH nach der Mikromethode von Astrup (Radiometer Kopenhagen)
   Venöser pCO_2, Standardbicarbonat und Base Excess nach dem Nomogramm von SIGGAARD-ANDERSEN (181)

8. pO_2 im arteriellen und venösen Vollblut polarographisch (Combianalysator Eschweiler, Kiel)

9. Arterielle und zentralvenöse Sauerstoffsättigung (Oxymeter, American. Opt. comp., Hellige Freiburg)

10. Arterieller und zentralvenöser Sauerstoffgehalt im Vollblut und Plasma (Lex-O_2-Con, Lexington, Instruments Company, Lexington Massachusetts, USA)

11. Sauerstoffbindungskapazität des Plasmas, nach Tonometrierung mit 30 % Sauerstoff (siehe unter 10.)

12. P_{50} des Vollbluts an Hand der Sauerstoffbindungskurve unter Standardbedingungen bei pH = 7,4 und 37°C. Der p_{50} ist der Sauerstoffpartialdruck, bei dem das Hämoglobin zu 50 Prozent mit O_2 gesättigt ist. (Dissociation Curve Analyzer DCA_1 nach DUVELLEROY et al. (46), Radiometer, Kopenhagen)

13. 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) im Vollblut (enzymatisch mit Phosphoglyceratmutase, Sigma, St. Louis, USA, photometrisch, Zeiss Photometer, Oberkochen, Württemberg)

14. Serumkreatinin und Gesamtbilirubin (Biochemica Test Combination, Boehringer GmbH, Mannheim, photometrisch, Zeiss Photometer)

15. Kolloidosmotischer Druck des Plasmas (KOD) (Membranosmometer, Fa. Knauer Berlin)

16. Natrium- und Kaliumkonzentration des Plasmas flammenphotometrisch (Flammenphotometer, Eppendorf)

17. Lokale Sauerstoffdrucke an der Muskeloberfläche mit einer Platin-Mehrdraht-Oberflächen-Elektrode nach KESSLER und LÜBBERS (89)

    Es handelt sich um eine 8-Draht-Elektrode, mit der polarographisch die interkapillären O_2-Drucke des Gewebes an 8 verschiedenen Stellen einer Organoberfläche gleichzeitig und unabhängig voneinander registriert werden können (92, 104, 125, 172). Die 15μ starken Platindrähte haben einen halbkugelförmigen Einzugsbereich mit einem Durchmesser von ca. 40μ (89, 125,172). Die Elektrode hat eine gemeinsame ringförmige Bezugselektrode aus Ag/AgCl und ist mit einer je 15μ dicken Cuprophan- und einer Teflonmembran bespannt (91, 104). Die Elektrode wird ohne sonstige Befestigung durch einen Plexiglasring gehalten, der durch die Saugwirkung von Filterpapier auf der Gewebeoberfläche festgehalten wird (90, 104). Das Gewicht der Elektrode ist so gering gehalten, daß keine lokale Druckischämie auftritt (92). An die Elektrode wird eine negative Spannung angelegt, wodurch der vom Gewebe an die Platinoberfläche diffundierende O_2 durch Elektronenanlagerung zu Wasser reduziert wird. Dadurch entsteht ein den lokalen pO_2-Werten proportionaler Stromfluß,

der mittels Galvanometerverstärker und Photoschreiber[x] registriert wird.

Zur Beurteilung der O_2-Versorgung eines Gesamtorgans bedarf es möglichst zahlreicher punktueller Einzelmessungen des pO_2. Die Werte werden als pO_2-Histogramme dargestellt und interpretiert (90, 103,109,163). Dazu werden die gemessenen pO_2-Werte in Klassen eingeteilt, die auf der Abszisse aufgetragen werden.
Von der Mehrzahl der Autoren wird eine Klassengröße von 5 mmHg bevorzugt. Die Zahl der pO_2-Werte pro Klasse und der prozentuale Anteil an der Gesamtzahl der Einzelmessungen wird auf der Ordinate angegeben (92,103,104,95,163).

Berechnungen:

1. Peripherer Gesamtwiderstand = $\frac{MAP - RAP}{HZV}$

2. Pulmonaler Strömungswiderstand = $\frac{PAP - PCWP}{HZV}$

3. Arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz im Vollblut ($AVDO_2$-Sätt.%) = SO_2% art. - SO_2% ven.

4. Bei allen O_2-Gehaltsmessungen wurde der im Plasma physikalisch gelöste O_2 entsprechend den jeweils vorliegenden arteriellen oder venösen Sauerstoffpartialdrucken abgezogen, um ausschließlich Veränderungen des am freien Hämoglobin gebundenen Sauerstoffs zu erfassen:

a) Physikalisch gelöster O_2 im arteriellen Plasma

$= pO_{2\,art} \times 0{,}022 \left(\frac{\text{ml Gas}}{\text{ml Flüssigkeit x Atm}}\right)$ (Löslichkeitskoeffizient für O_2 bei 37 °C (35))

= (Vol%)

b) Physikalisch gelöster O_2 im venösen Plasma

$= pO_{2\,ven.} \times 0{,}022 \left(\frac{\text{ml Gas}}{\text{ml Flüssigkeit x Atm}}\right)$ (35)

= (Vol%)

---

x Recording Oscillograph, Consolidated Electrodynamics Corporation, Pasadena, California, USA

5. Sauerstoffangebot (O_2A) durch Vollblut =

$$= \frac{\text{arterieller Sauerstoffgehalt}_{VB}\ (\text{Vol\%}) \times \text{HZV}}{100} \quad (\text{ml } O_2/\text{kg.min})$$

6. Sauerstoffangebot (O_2A) durch Plasma-Hämoglobin

$$= \frac{\text{arterieller } O_2\text{-Gehalt}_{Pl.-Hb}\ (\text{Vol\%}) \times \text{HZV}}{100} \quad (\text{ml } O_2/\text{kg.min})$$

7. Sauerstoffverbrauch (O_2C) aus Vollblut

$$= \frac{AVDO_{2_{VB}}\ (\text{Vol\%}) \times \text{HZV}}{100} \quad (\text{ml } O_2/\text{kg.min})$$

8. Sauerstoffverbrauch (O_2C) aus Plasma-Hämoglobin

$$= \frac{AVDO_{2_{Pl.-Hb}}\ (\text{Vol\%}) \times \text{HZV}}{100} \quad (\text{ml } O_2/\text{kg.min})$$

9. Sauerstoffextraktion aus Erythrozyten-Hämoglobin

$$= \frac{AVDO_{2_{Ery.-Hb}}\ (\text{Vol\%}) \times 100}{\text{art. } O_2\text{-Gehalt}_{Ery.-Hb}\ (\text{Vol\%})} \quad (\%)$$

10. Sauerstoffextraktion aus Plasma-Hämoglobin

$$= \frac{AVDO_{2_{Pl.-Hb}}\ (\text{Vol\%}) \times 100}{\text{art. } O_2\text{-Gehalt}_{Pl.-Hb}\ (\text{Vol\%})} \quad (\%)$$

Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM). Die Prüfung auf signifikante Veränderungen innerhalb einer Versuchsgruppe erfolgte nach dem WILCOXON-matched-pairs-signed-ranks-Test (Vergleich zweier abhängiger Stichproben).

Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen wurden mit dem MANN-WHITNEY-Test erfaßt (Vergleich zweier unabhängiger Stichproben).

Versuchsablauf:

Nach der Kontrollabnahme wurden die Tiere rasch aus der A.femoralis entblutet, entweder bis zum mechanischen Herzstillstand oder bis 2/3 des Sollblutvolumens (112, 174, 175, 176) entzogen waren. Sie wurden dann sofort durch externe Herzmassage und schnellen, isovolämischen und normothermen Blutersatz reanimiert. Dies erfolgte in Form einer gleichzeitigen Druckinfusion von Dextran 60 und Hämoglobinlösung über die beiden vv. femorales in einem Verhältnis von 1 : 4. Die Infusionsgeschwindigkeit wurde anhand des rechten Vorhofdrucks reguliert.
Bis 60 Minuten nach Austauschende erfolgte keine weitere Volumenzufuhr. Eine in diesem Zeitraum entstandene Hypovolämie wurde anschließend durch Infusion von Ringer-Laktat (n. Hartmann) beseitigt. Der rechte Vorhofdruck wurde als Leitgröße für die weitere Volumentherapie auf den Kontrollwert eingestellt und über die folgende 3-Stundenperiode durch fortlaufende Infusion konstant gehalten.
Succinyldicholin[x] war zu Beginn des Versuchs so dosiert worden, daß die Tiere spätestens 1 Stunde nach Austauschende spontan atmeten. Die weitere Anaesthesie erfolgte mit 0,5%-igem Methohexital-Natrium[xx] im Dauertropf.
Messungen erfolgten vor der Entblutung (Kontrollwert), 10 min, 60 min, 120 min und 240 min. nach dem Austauschende. Anschließend wurden die Katheter entfernt, die Wunden versorgt, Ampicillin-Natrium und Oxacillin-Natrium[xxx] i.v. verabreicht und die Tiere in den Stall gebracht. Dort hatten sie freien Zugang zu Wasser und Nahrung.

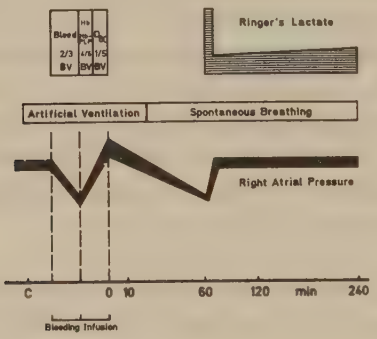
---

x Lysthenon^{R}, Lentia GmbH, München

xx Brevimytal^{R}, Lilly GmbH, Gießen

xxx Totocillin^{R}, Bayer AG, Leverkusen-Bayerwerk

Abbildung 1
Versuchsmodell zur Reanimation mit pyridoxylierter stromafreier Hämoglobinlösung (= SFH-PLP) niederer O_2-Affinität und konventioneller stromafreier Hämoglobinlösung (= SFH) hoher O_2-Affinität. Die Beschreibung ist dem Text zu entnehmen.



Postoperative Beobachtung und Messungen:
Während der ersten 5 postoperativen Tage wurden Antibiotika i.m. verabreicht. (500.000 I.E. Penicillin G, 0,5 g Streptomycin-Sulfat[x]/die)
Am 1., 3., 5., 7. Tag wurden Hämatokrit, Hämoglobinkonzentration in Vollblut und Plasma, Kaliumkonzentration im Plasma, KOD des Plasmas, 2,3-DPG im Vollblut sowie Kreatinin und Gesamtbilirubin gemessen.
Am 7. Tag wurden die überlebenden Tiere eingeschläfert und wie bei den vorzeitig gestorbenen, Organproben von Herz, Lunge, Leber und Nieren entnommen.

---

x Supracillin^R, Chemie Grünenthal GmbH, Stollberg im Rheinland

Die Hämoglobinlösungen und ihre Herstellung:

Zur Verwendung kamen 2 verschiedene stromafreie Hämoglobinlösungen (= SFH-Lösungen):

1. Konventionelle stromafreie 6%-ige Hämoglobinlösung (SFH) (n = 7)

2. Pyridoxylierte stromafreie 6%-ige Hämoglobinlösung (SFH-PLP) (n = 7)

Beide Lösungen wurden von Dr. K. BONHARD (21, 23, 25) (Biotest Serum Institut, Frankfurt/Mainz) aus überalterten Humanerythrozyten verfallenen Konservenbluts hergestellt.

Die Humanerythrozyten werden mit einer Lösung von β-Propiolakton behandelt. Anschließend wird das Gemisch gewaschen, um β-Propiolakton und seine Reaktionsprodukte bis auf minimale Reste zu entfernen (25). Diesem Herstellungsschritt folgt 4-maliges Waschen mit 1,6%-iger NaCl-Lösung. Die Hämolyse wird mit demineralisiertem, destilliertem Wasser durchgeführt. Vor der Zentrifugation zur Sedimentation der Stromata wurde der pH der Lösung auf 5 - 6 erniedrigt. Die Kaliumentfernung erfolgt über einen Kationenaustauscher. Zuletzt werden die Hämoglobinlösungen steril filtriert.

SFH-PLP wurde modifiziert nach einer Methode von BENESCH et al. (12) hergestellt. In die N-terminalen Valin der beiden β-Ketten des Hämoglobinmoleküls wurde Pyridoxal-Phosphat (= PLP) über die Bildung einer Schiff'schen Base eingeführt. Nach BENESCH et al. (12) bleibt nach Reduktion der Schiff'schen Base mit Natrium-Boro-Hydrid das PLP kovalent an die beiden β-Ketten gebunden, wodurch es zur konstanten Aenderung der Oxygenierungseigenschaften des Hämoglobins kommt. Auf diesen letzten Schritt hat BONHARD jedoch verzichtet. BENESCH et al. (12) konnten in vitro zeigen, daß PLP analog dem 2,3-DPG - die beiden Verbindungen konkurrieren um die selbe Stelle im Deoxy-Hämoglobin - die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins vermindert.

Die Zusammensetzung der Hämoglobinlösungen wurde von BONHARD wie folgt angegeben.

Tabelle 1
Zusammensetzung der stromafreien Hämoglobinlösungen nach Herstellerangabe

Charge		750129	750430	750506
Hb	(g%)	6,0	5,8	6,2
Met-Hb	(rel.%)	0,6	0,9	0,8
Glucose	(g/l)	31	32	32
Bicarbonat	(mVal/l)	30	30	30
Natrium	(mVal/l)	93	146	150
Kalium	(mVal/l)	1,6	3,1	3,3
Chlorid	(mVal/l)	45	106	110

Die linke Spalte zeigt die Zusammensetzung der konventionellen SFH-Lösung, die beiden rechten die der SFH-PLP-Lösung, von der 2 in ihrer Zusammensetzung nahezu identische Chargen verwendet wurden.
Alle Hämoglobinlösungen waren steril und pyrogenfrei.

Von uns wurde noch folgende in vitro Analyse durchgeführt. p_{50}, 2,3-DPG, O_2-Bindungskapazität, pH, KOD, Osmolarität; nochmal kontrolliert wurden Hb, Na, K.

Gruppeneinteilung:

Untersucht wurden 14 Hunde in 2 Gruppen:

Gruppe A: Reanimation mit 6%-iger konventioneller stromafreier Hämoglobinlösung und Dextran 60 im Verhältnis 4 : 1 (n = 7), mittleres KG 15,6 $\pm$ 1,1 kg

Gruppe B: Reanimation mit 6%-iger SFH-PLP-Lösung und Dextran 60 im Verhältnis 4 : 1 (n = 7), mittleres KG 14,0 $\pm$ 1,1 kg

C. ERGEBNISSE

1. In vitro Analyse der stromafreien Hämoglobinlösungen

Tabelle 2

Charge		75o129	75o430	75o506
Hb	(g%)	6,3	6,2	6,6
P_{50}	(mmHg)	13,2	33,3	29,3
2,3-DPG	(µMol/gHb)	12,1	0	3
O_2-Cap.	(Vol%)	6,22	7,7	8,5
Bindungszahl	(ml/gHb)	0,99	1.23	1,30
pH		7,55	7,454	7,326
K	(mVal/l)	1,7	3,0	3,1
Na	(mVal/l)	88,5	143,6	143,4
Osmolarität	(mosmol/l)	340,0	468	468
KOD	(cm H_2O)	46,4	44	43,0

Die linke Spalte zeigt die Zusammensetzung der konventionellen SFH-Lösung (= Gruppe A), die beiden rechten die der SFH-PLP-Lösung (= Gruppe B), von der 2 in ihrer Zusammensetzung nahezu identische Chargen verwendet wurden.

Während die Hämoglobinkonzentration der Lösung in beiden Gruppen annähernd gleich ist, besteht in der O_2-Bindungskapazität ein deutlicher Unterschied. Dies ist aus den Bindungszahlen zu ersehen. Die Bindungszahl der konventioenllen SFH-Lösung, also der chemisch pro Gramm Hämoglobin gebundene Sauerstoff, beträgt nur 0,99 ml O_2/ g Hb. Die Na-Konzentration liegt in der konventionellen SFH-Lösung mit 88,5 mVal/l wesentlich niedriger als in der SFH-PLP-Lösung mit 143,5 mVal/l.
Die Kalium-Konzentration ist in der Lösung der Gruppe A mit 1,5 mVal/l sehr niedrig, in der der Gruppe B ist sie mit 3 mVal/l den Plasma-normalwerten angenähert.
Durch Zusatz von Glucose zur Stabilisierung der Lösung liegt die Osmolarität in allen Chargen deutlich über den normalen Plasmawerten, besonders ausgeprägt in der SFH-PLP-Lösung.
Im Kolloidosmotischen Druck unterscheiden sich die beiden Lösungen kaum, liegen aber erheblich über dem KOD des Plasmas.

Der entscheidende Unterschied zwischen den beiden Hämoglobinlösungen ist im p_{50}-Wert zu sehen. Die Sauerstoffaffinität der konventionellen SFH-Lösung ist mit einem p_{50} von 13,2 mmHg extrem hoch. Der p_{50} der SFH-PLP-Lösung beträgt dagegen 29,3 bzw. 33,3 mmHg und liegt damit über dem Normalwert des Vollbluts. Die Sauerstoffabgabebereitschaft der SFH-PLP-Lösung übertrifft damit theoretisch die der Erythrozyten.

2. In vivo Ergebnisse

Die Entblutungs- und Infusionsvolumina waren in beiden Gruppen gleich groß. Die Infusionsdauer wurde jeweils der Entblutungsdauer angepaßt. Während der Entblutung trat in Gruppe A bei 4 und in Gruppe B bei 6 Hunden ein mechanischer Herzstillstand ein.
Um den rechten Vorhofdruck auf der Höhe des Kontrollwertes konstant zu halten, benötigten die Tiere in Gruppe A 100,7 ml/kg Ringers-Laktat, in Gruppe B 138,0 ml/kg innerhalb von 3 Stunden, wobei mit der Infusion 6o Minuten nach der Reanimation begonnen wurde. Die Tiere erhielten damit 132 bzw. 182 Prozent ihres Sollblutvolumens als Ringers-Laktat infundiert, um bis zum Versuchsende annähernd Normovolämie aufrecht zu erhalten.
In Gruppe A überlebten alle Versuchstiere langfristig, 3 wurden jedoch vor dem 7. postoperativen Tag eingeschläfert, um Gewebeveränderungen zu erfassen, die möglicherweise nur in den ersten Tagen zu erkennen sind. Die Tiere waren bis zur Tötung klinisch unauffällig und werden deshalb den Tieren zugezählt, die langfristig überlebt haben. In Gruppe B starben 3 Tiere vorzeitig, 2 davon noch am Versuchstag, der 3. Hund am ersten postoperativen Tag. Die makroskopischen und histologischen Befunde sind auf Seite 45 aufgeführt.

Tabelle 3
Wiederbelebung mit konventioneller SFH-Lösung bzw. SFH-PLP-Lösung und Dextran 60 im Verhältnis 4 : 1 nach isovolämischem Austausch von zwei Dritteln des Sollblutvolumens. Angegeben sind die Mittelwerte ± mittlerer Fehler des Mittelwertes.

		Gruppe A	Gruppe B
Entblutungsvolumen	(ml/kg)	51,7 ± 0,7	48,2 ± 0,7
Entblutungsdauer	(min)	5,5 ± 0,6	7,1 ± 0,6
Herzstillstand		4/7	6/7
Dextran 60	(ml/kg)	10,4 ± 0,2	10,3 ± 0,2
Hämoglobinlösung	(ml/kg)	41,3 ± 0,6	40,2 ± 0,3
Infusionsdauer	(min)	5,3 ± 1,2	7,0 ± 0,8
Ringers-Laktat	(ml/kg)	100,7 ± 9,6	138 ± 26,2
Überlebensrate		7/7	4/7

2.1. Veränderungen des Hämatokrit und der Hämoglobinkonzentration im Vollblut und Plasma (Tab. 4)

10 Minuten nach Reanimation beträgt der H ä m a t o k r i t in beiden Gruppen 1/3 des Ausgangswertes. Er steigt in beiden Gruppen bis zur 30. Minute signifikant an. Obwohl den Versuchstieren von der 60. Minute an große Mengen von Ringer-Laktat infundiert wurden, gelang es in beiden Gruppen nicht, den Hämatokrit auf dem Niveau des Wertes zu halten, der 10 Minuten nach Austauschende gemessen worden war.
In Gruppe A lagen alle Hämatokritwerte nach Beginn der Ringer-Laktat-Infusion signifikant über dem Wert 10 Minuten nach der Reanimation.
In Gruppe B ist der Hämatokrit bei der letzten Abnahme dem 10-Minutenwert angenähert.
Bereits die Hämatokritausgangswerte der beiden Gruppen unterscheiden sich deutlich. Nach dem Austausch wird der Unterschied - bis auf den 30- und 60-Minutenwert - statistisch signifikant: So beträgt in der Gruppe A der Hämatokrit 13,5 ± 0,7 Prozent, in der Gruppe B dagegen 9,6 ± 0,7 Prozent. Bei Versuchsende ist der Unterschied noch ausgeprägter: In Gruppe A liegt ein Hämatokrit von 17 ± 0,6 vor, in Gruppe B

beträgt er nur 10,4 ± 0,7 Prozent.

Die H ä m o g l o b i n konzentration des Vollbluts beträgt 10 Minuten nach der Reanimation die Hälfte des Ausgangswertes. Auf den signifikanten Anstieg der Konzentration bis zur 60. Minute folgt während der Ringer-Laktat-Infusion ein kontinuierlicher Abfall bis auf 6,3 g% in Gruppe A und 5,3 g% in Gruppe B.

Die Konzentration des P l a s m a h ä m o g l o b i n s beträgt 10 Minuten nach dem Austausch in Gruppe A 3,2g% und in Gruppe B 3,0 g%. In Gruppe A erfolgt die Abnahme der Plasmahämoglobinkonzentration bereits signifikant 30 Minuten nach der Reanimation. In Gruppe B ist eine statistisch auffällige Verminderung erst nach Beginn der Kristalloidinfusion zu sehen. Der Abfall ist in beiden Gruppen annähernd linear und während der Ringer-Laktat-Zufuhr beschleunigt. Bei Versuchsende (240 min.) beträgt die Hämoglobinkonzentration im Plasma ungefähr die Hälfte des 10-Minutenwertes. Am 1. postoperativen Tag sind nur noch geringe Hämoglobinkonzentrationen im Plasma nachzuweisen, am 3. Tag ist das Plasma frei von extraerythrozytärem Hämoglobin.

Tabelle 4

Ausgangswerte und Veränderungen des Hämatokrit (Hkt) und der Hämoglobinkonzentration von Vollblut (Hb_B) und Plasma (Hb_p).

		K	10′	30′	60′	90′	120′	150′	180′	210′	240′	1.Tag	3.Tag	5.Tag	7.Tag
Hkt (%)	A	37 ±2,0	13,5 ±0,7	16,2 ±0,7	13,7 ±0,8	15,7^{s} ±0,6	15,1^{s} ±0,4	16,5^{s} ±0,8	16,8^{s} ±0,9	17,5^{s} ±0,9	17,0^{s} ±0,6	16,0 ±1,2	16,4 ±1,5	20,3 ±1,7	22,0 ±2,0
	B	32,4 ±1,8	9,6^{x} ±0,4	12,1^{s} ±0,8	10,6^{s} ±0,5	11,8^{s,x} ±0,7	10,9^{s,x} ±0,7	12,5^{s,x} ±0,4	12,5^{s,x} ±0,3	11,9^{s} ±0,6	10,4^{x} ±0,7	11,9 ±1,0	13,6 ±1,6	15,2 ±1,3	18,8 ±1,6
Hb_B (g%)	A	14,4 ±0,6	7,3 ±0,3	7,5 ±0,4	7,7^{s} ±0,3	6,7^{s} ±0,3	6,6^{s} ±0,4	6,7^{s} ±0,4	6,6^{s} ±0,4	6,6^{s} ±0,4	6,3 ±0,5	5,8 ±0,7	6,2 ±0,5	6,8 ±0,7	6,9 ±0,7
	B	12,6 ±0,8	6,3 ±0,3	6,5^{s} ±0,3	6,9^{s} ±0,3	6,3 ±0,2	6,1 ±0,2	5,9^{s} ±0,2	5,9^{s} ±0,3	5,5^{s} ±0,3	5,3^{s} ±0,3	5,0 ±0,5	5,4 ±0,3	5,8 ±0,3	6,7 ±0,4
Hb_p (g%)	A		3,2 ±0,1	3,0^{s} ±0,1	3,0^{s} ±0,1	2,3^{s} ±0,1	2,1^{s} ±0,1	2,0^{s} ±0,1	1,8^{s} ±0,1	1,7^{s} ±0,1	1,5^{s} ±0,1	0,03	0,04	0,01	0
	B		3,0 ±0,2	2,9 ±0,2	2,9 ±0,2	2,5^{s} ±0,1	2,2^{s} ±0,1	2,1^{s} ±0,1	1,9^{s} ±0,2	1,7^{s} ±0,1	1,6^{s} ±0,1	0,2	0,04	0	0

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem Wert 10 Minuten nach Austauschende

x = signifikanter Unterschied zu Gruppe A

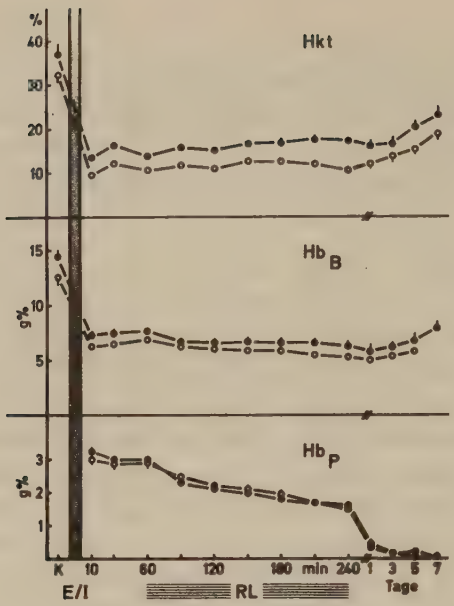


Abbildung 2

Hämatokrit (Hkt), Hämoglobinkonzentration in Vollblut (Hb_B) und Plasma (Hb_P) vor und nach dem Blutaustausch.

(●——— = Gruppe A, o——— o = Gruppe B

K = Kontrollwerte, E/I = Entblutungs-/Infusionsphase,

RL = Ringer-Laktat Infusion)

2.2. Hämodynamische Veränderungen

In beiden Gruppen erfolgt während der Entblutung ein Abfall der H e r z f r e q u e n z auf Werte gegen Null. In Gruppe A beträgt die Frequenz 10 Minuten nach Austauschende 109/min und bleibt mit diesem und allen folgenden Werten signifikant gegenüber dem Kontrollwert erniedrigt (Abb. 3)

In Gruppe B ist die Herzfrequenz 10 Minuten nach der Reanimation mit 122/min gegenüber dem Kontrollwert signifikant reduziert, steigt dann aber bis Versuchsende wieder auf das Ausgangsniveau. Zwischen den beiden Gruppen besteht zu keinem Zeitpunkt ein statistisch signifikanter Unterschied.

Das H e r z z e i t v o l u m e n ist in Gruppe A bei den Messungen nach der Reanimation leicht erhöht, signifikant über dem Ausgangswert liegt es nur 120 Minuten nach Blutaustausch. Auffallend ist die Konstanz bzw. die Erhöhung des Herzzeitvolumens bei signifikant erniedrigter Herzfrequenz.

In Gruppe B bleibt das Herzminutenvolumen über die gesamte Versuchsdauer gegenüber dem Kontrollwert signifikant erhöht.
Statistisch besteht zwischen den beiden Gruppen bei keinem der Meßpunkte ein Unterschied.

Trotz des starken Hämatokritabfalls tritt nur eine geringgradige Verminderung des g e s a m t e n p e r i p h e r e n W i d e r s t a n d e s ein. Ein signigikanter Abfall des TPR gegenüber dem Ausgangsniveau ist in Gruppe A nur 120 Minuten und in Gruppe B 10 Minuten nach Austauschende festzustellen.

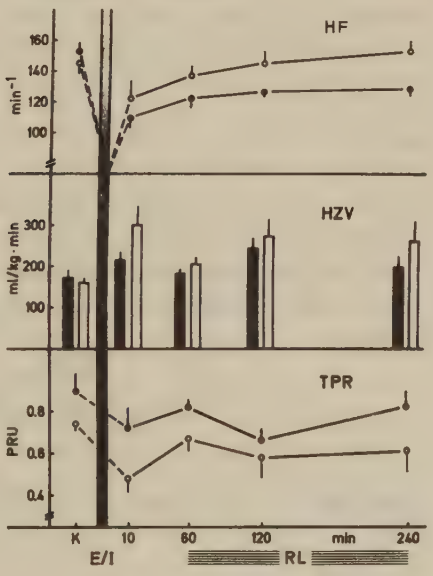


Abbildung 3

Ausgangswerte und Veränderungen von Herzfrequenz (HF), Herzzeitvolumen (HZV) und totalem peripherem Widerstand(TPR) nach Reanimation mit SFH-Lösungen hoher und niedriger O_2-Affinität. (Schwarze Säulen = Gruppe A weiße Säulen = Gruppe B, K = Kontrollwerte, E/I = Entblutungs-/Infusionsphase, RL = Ringer-Laktat-Infusion)

Tabelle 5

Ausgangswerte und Veränderungen von Herzfrequenz (HF), Herzzeitvolumen (HZV) und gesamtem peripheren Widerstand (TPR) nach isovolämischem Austausch von Vollblut gegen SFH-Lösungen hoher und niedriger O_2-Affinität und Dextran 60 im Verhältnis 4:1.

		K	10'	60'	120'	240'
HF (1/min)	A	153,6 ±5,6	109^s ±6,4	122,5^s ±6,7	126,4^s ±3,7	129^s ±5,0
	B	145 ±7,3	122^s ±11,9	137 ±7,6	145 ±8,3	153 ±8,0
HZV (ml/kg·min)	A	174,1 ±17,5	216,7 ±21,8	182,0 ±8,6	244,7^s ±24,9	201,5 ±24,9
	B	159,7 ±10,6	302,6^s ±46,4	206,8^s ±16,8	274,9^s ±41,6	263,3^s ±46,6
HZV (%)	A	100	133 ±26,6	107,6 ±10,6	145,3^s ±16,5	118,6 ±12,5
	B	100	187,4^s ±21,3	130,9^s ±8,7	172,9^s ±21,4	167,3^s ±22,9
TPR (PRU)	A	0,89 ±0,09	0,72 ±0,1	0,82 ±0,04	0,66 ±0,06	0,82 ±0,08
	B	0,74 ±0,03	0,48^s ±0,07	0,67 ±0,06	0,58 ±0,1	0,61 ±0,1

Signifikanz: s = Signifikant gegenüber dem jeweiligen Kontrollwert

Tabelle 6 und Abbildung 4 ist zu entnehmen, daß der mittlere arterielle Druck (MAP) in Gruppe A sich nach der Reanimation auf dem Ausgangsniveau befindet und während des Versuchs keinen größeren Schwankungen unterworfen ist. In Gruppe B liegt er nach dem Austausch bis zum Versuchsende signifikant über dem Kontrollwert.
Zwischen den beiden Gruppen existiert kein statistisch auffälliger Unterschied.

Der rechte Vorhofdruck (RAP) sinkt während der Entblutung stark ab und befindet sich 10 Minuten nach dem Austausch signifikant über dem Ausgangswert. Die Ursache für diesen deutlichen Anstieg ist die rasche Infusion der Hämoglobin- und Dextranlösung nach der Entblutung. Sie führt zu einer vorübergehenden Rechtsherzüberlastung (Abb. 4), die jedoch in Kauf genommen wurde, um die Schockphase möglichst kurz zu halten. Nach 60 Minuten befindet sich der RAP wieder auf dem Ausgangsniveau und wird durch fortlaufende Infusion von Ringer-Laktat auf dem Kontrollwert gehalten.

In beiden Gruppen ist der Pulmonalarteriendruck (PAP) 10 Minuten nach Austauschende signifikant über den Kontrollwert erhöht. 60 Minuten nach Reanimation liegt der PAP in beiden Gruppen gering unter dem Ausgangswert. Bei Versuchsende liegt der PAP in Gruppe A im Ausgangsbereich, in Gruppe B steigt er mäßig an, liegt aber nicht signifikant über dem Kontrollwert. Zwischen den beiden Gruppen besteht zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied.

10 Minuten nach der Reanimation ist der Lungenkapillarverschlußdruck (PCWP) in beiden Gruppen auf mehr als das Doppelte des Kontrollwertes erhöht. Vor Beginn der Ringer-Laktat-Infusion liegt er in Gruppe A noch signifikant über dem Ausgangswert und steigt während der Ringer-Laktat-Infusion noch weiter an. In Gruppe B ist der PCWP nach einer Stunde wieder auf den Ausgangswert gefallen. Während der Ringer-Laktat-Infusion steigt er bis zur letzten Messung kontinuierlich und signifikant.

In Gruppe A ist der arterioläre Lungengefäßwiderstand von der 60. Minute an signifikant unter den Ausgangswert vermindert. In Gruppe B ist die Widerstandsverminderung nicht signifikant.

Tabelle 6

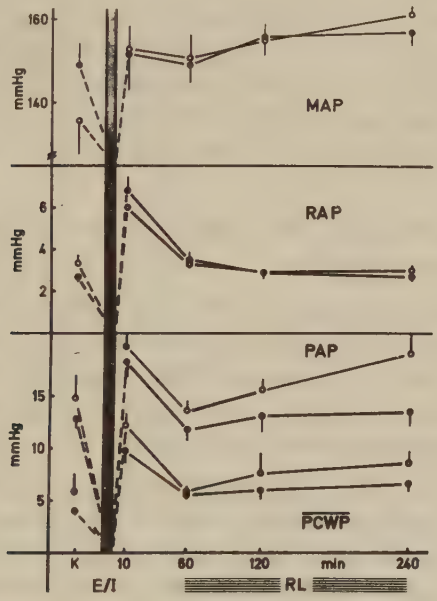
Ausgangswerte und Veränderungen von mittlerem arteriellem Druck (MAP), mittlerem rechtem Vorhofdruck (RAP), mittlerem Pulmonalarteriendruck (PAP) und mittlerem Lungenkapillarverschlußdruck (PCWP). Aufgeführt ist ferner der arterioläre Lungengefäßwiderstand.

		K	10′	60′	120′	240′
MAP (mmHg)	A	149,3 ±5,1	151,7 ±8,7	149,2 ±4,0	155,7 ±3,2	157,1 ±2,9
	B	135,7 ±8,8	152,9^{s} ±5,7	150,7^{s} ±5,8	155,0^{s} ±3,6	161,4^{s} ±2,4
RAP (mmHg)	A	2,7 ±0,2	6,8^{s} ±0,7	3,5 ±0,4	2,9 ±0,1	2,7 ±0,2
	B	3,4 ±0,4	6,0^{s} ±0,6	3,3 ±0,2	2,9 ±0,3	3,0 ±0,2
PAP (mmHg)	A	12,8 ±0,9	18,3^{s} ±1,2	11,8 ±1,1	13,1 ±1,6	13,5 ±1,4
	B	14,8 ±2,2	19,8^{s} ±1,2	13,6 ±1,0	15,5 ±1,7	19,1 ±3,1
PCWP (mmHg)	A	4,0 ±0,4	9,8^{s} ±1,3	5,5^{s} ±0,4	6,0^{s} ±0,9	6,6^{s} ±0,7
	B	5,9 ±1,6	12,1^{s} ±1,2	5,9 ±0,4	7,6^{s} ±1,9	8,6^{s} ±1,3
arteriolärer Lungengefäß-widerstand (mmHg•kg•min•ml-1)	A	0,052 ±0,005	0,04 ±0,006	0,033^{s} ±0,005	0,3^{s} ±0,003	0,035 ±0,002
	B	0,057 ±0,011	0,027 ±0,005	0,036 ±0,005	0,029 ±0,006	0,038 ±0,008

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem jeweiligen Kontrollwert

Abbildung 4

Ausgangswerte und Veränderungen von mittlerem arteriellem Druck (MAP),
mittlerem rechtem Vorhofdruck(RAP),
mittlerem Druck in der A. pulmonalis (PAP) und
mittlerem Lungenkapillarverschlußdruck (PCWP).
(●——● = Gruppe A, ○——○ = Gruppe B,
K = Kontrollwert, E/I = Entblutungs/ Infusionsphase,
RL = Ringer-Laktat-Infusion)



2.3. Sauerstoffversorgung der Versuchstiere nach Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität und SFH-PLP-Lösung niedriger O_2-Affinität

Tabelle 7 und Abbildung 6 ist zu entnehmen, daß der arterielle pO_2 in beiden Gruppen konstant bleibt, d. h. es tritt zu keinem Zeitpunkt eine Hypoxämie auf.

Der venöse pO_2 liegt in beiden Gruppen nach Austauschende bis zur letzten Abnahme signifikant unter dem Kontrollwert. Zwischen den beiden Gruppen besteht kein statistisch signifikanter Unterschied.

Obwohl der arterielle pO_2 in beiden Gruppen vor und nach der Reanimation gleich hoch ist, tritt in Gruppe A nach dem Austausch ein signifikanter Abfall der Sättigung (%) des arteriellen Vollbluts ein. In Gruppe B dagegen ist ein Abfall der arteriellen Sättigung nicht zu beobachten. Von der 10. Minute an besteht zwischen beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied.

Die Sättigung (%) des venösen Vollbluts ist in beiden Gruppen nach dem Austausch signifikant reduziert.

Die arterio-venöse O_2-Sättigungsdifferenz des Vollbluts (Abbildung 5) nimmt nach der Reanimation in beiden Gruppen deutlich zu, es ist aber nicht zu erkennen, welchen Anteil das Plasma-Hämoglobin dabei hat. Um diesen Anteil präzise zu erfassen, wurde eine getrennte Analyse der $AVDO_2$ von Vollblut und Plasmahämoglobin durchgeführt.

Bedingt durch die nur 6%-ige Hämoglobinlösung und das Dextran ist der O_2-Gehalt des arteriellen Vollbluts in Gruppe A auf 42 und in Gruppe B auf 47 Prozent reduziert. Bis Versuchsende erfolgt nur in Gruppe B ein signifikanter Abfall der O_2-gehalts gegenüber dem 10-Minutenwert. Der genaue Verlauf ist aus Tabelle 7 zu ersehen.

Der O_2-Gehalt des arteriellen Plasma-Hämoglobins beträgt 10 Minuten nach dem Volumenaustausch in Serie A 3,3 und in Gruppe B 3,5 Vol %. Bei Versuchsende liegt er in beiden Gruppen bei etwa der Hälfte. Er ist in Gruppe B während der gesamten Versuchsdauer höher als in Guppe A. Statistisch signifikant ist der Unterschied jedoch nur nach 60 Minuten.

Die $AVDO_2$ (Vol %) des Vollbluts bleibt in Gruppe A konstant bis auf den Wert 120 Minuten nach dem Austausch, der deutlich niedriger liegt.

In Gruppe B ist nur der 10-Minutenwert statistisch niedriger als der Kontrollwert.

Die $AVDO_2$ (Vol%) des Plasma-Hämoglobins ist in Gruppe B größer. In beiden Gruppen nimmt sie gegen Versuchsende ab. In Gruppe A beträgt sie am Schluß 1/4, in Gruppe B knapp 2/3 des 10-Minutenwertes.
Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ist von der 60. Minute an festzustellen.

Tabelle 7

Ausgangswerte und Veränderungen des arteriellen und venösen pO_2 (mmHg), der arteriellen und venösen Sättigung (%), sowie der $AVDO_2$ des Vollbluts (%). Aufgeführt sind ferner der arterielle und venöse Sauerstoffgehalt (Vol%), sowie die $AVDO_2$ (Vol %) des Vollbluts und des Plasmahämoglobins.

		K	10′	60′	120′	240′
art. pO_2 (mmHg)	A	110,1 ±4,8	108,9 ±5,3	120,1 ±11,4	121 ±8,1	111,5 ±9,8
	B	113,4 ±7,1	118,8 ±7,9	112,4 ±7,5	113 ±5,9	117,1 ±8,4
ven. pO_2 (mmHg)	A	54 ±2,7	33,9^{s} ±2,5	38,7^{s} ±1,6	50,5 ±4,0	41,2^{s} ±3,2
	B	53,5 ±2,7	46,1^{s} ±4,9	37,8^{s} ±3,7	39^{s} ±2,8	35,2^{s} ±2,7
art. Sättigung (%)	A	95 ±0,6	90,6^{s} ±0,7	90,5^{s} ±0,4	90,1^{s} ±0,9	89,9^{s} ±0,5
	B	94,8 ±0,6	93,7 ±0,6	93,9^{x} ±0,4	93,6^{x} ±0,5	93,0^{x} ±0,6
ven. Sättigung (%)	A	79 ±2,4	59,4^{s} ±1,8	62,9^{s} ±3,3	71,9^{s} ±1,7	63,2^{s} ±2,2
	B	78,9 ±2,8	71,7^{s} ±3,2	64,1^{s} ±3,8	68,5^{s} ±3,2	62,4^{s} ±3,2
$AVDO_2$ Vollblut (Sätt. %)	A	16 ±2,4	30,2^{s} ±0,9	29,6^{s} ±2,9	19,9 ±2,3	26,7^{s} ±2,3
	B	15,9 ±3,1	22,1^{s} ±3,5	29,7^{s} ±3,7	25,1^{s} ±3,3	30,6^{s} ±2,9

Fortsetzung der Tabelle umseitig

Fortsetzung Tabelle 7

		K	10′	60′	120′	240′
O_2-Gehalt VB.-art. (Vol%)	A	18,3 ±0,8	8,1^{s} ±0,4	9,0^{s} ±0,5	7,9^{s} ±0,6	7,7^{s} ±0,5
	B	16,1 ±1,0	7,6^{s} ±0,4	8,8^{s} ±0,5	7,4^{s} ±0,4	6,6^{s} ±0,5
O_2-Gehalt VB.-ven. (Vol%)	A	14,5 ±1,1	4,3^{s} ±0,4	5,5^{s} ±0,5	5,6^{s} ±0,3	4,2^{s} ±0,3
	B	12,8 ±1,0	5,3^{s} ±0,7	5,4^{s} ±0,7	4,6^{s} ±0,4	3,4^{s} ±0,6
$AVDO_2$ VB. (Vol%)	A	3,9 ±0,5	3,8 ±0,2	3,5 ±0,4	2,3^{s} ±0,3	3,5 ±0,2
	B	3,3 ±0,5	2,3^{sx} ±0,3	3,3 ±0,4	2,8 ±0,3	3,1 ±0,2
O_2-Gehalt Pl.-Hb.art. (Vol%)	A		3,29 ±0,17	3,03$^{s'}$ ±0,18	2,3$^{s'}$ ±0,13	1,52$^{s'}$ ±0,16
	B		3,54 ±0,21	3,55^{x} ±0,19	2,65$^{s'}$ ±0,16	1,74$^{s'}$ ±0,15
O_2-Gehalt Pl.-Hb.ven. (Vol%)	A		2,74 ±0,16	2,72 ±0,18	2,1$^{s'}$ ±0,13	1,39$^{s'}$ ±0,11
	B		3,0 ±0,25	2,87 ±0,2	2,22$^{s'}$ ±0,14	1,39$^{s'}$ ±0,11
$AVDO_2$ Pl.-Hb (Vol%)	A		0,54 ±0,05	0,32 ±0,09	0,2$^{s'}$ ±0,06	0,14$^{s'}$ ±0,04
	B		0,54 ±0,13	0,68^{x} ±0,13	0,43^{x} ±0,1	0,35^{x} ±0,06

Legende: ^{s} = signifikant gegenüber dem jeweiligen Kontrollwert.
^{x} = signifikanter Unterschied zu Gruppe A
$^{'}$ = signifikanter Unterschied gegenüber dem 10-Minutenwert.

Um das Auftreten inaktiven Hämoglobins zu erfassen, wurde nach 10 und 60 Minuten die O_2-Bindungskapazität des Plasmahämoglobins gemessen. Aus dieser und der jeweiligen Plasmahämoglobinkonzentration wurde die O_2-Bindungszahl berechnet.

Tabelle 8

Bindungskapazität, Konzentration und O_2-Bindungszahl des Plasmahämoglobins nach 10 bzw. 60 Minuten.

		10′	60′
Bindungskapazität (Vol%)	A	3,27 ±0,2	3,17 ±0,15
	B	3,56 ±0,17	3,66 ±0,18
Pl.-Hb. Konzentration (g%)	A	3,23 ±0,12	3,01 ±0,09
	B	2,98 ±0,18	2,92 ±0,18
O_2-Bindungszahl (ml O_2/ g Hb)	A	1,01 ±0,08	1,05 ±0,05
	B	1,19 ±0,03	1,25^{x} ±0,04

Signifikanz: x = signifikanter Unterschied zu Gruppe A.

Die Bindungszahl des stromafreien Hämoglobins betrug vor der Infusion in vitro in Gruppe A 0,99, in Gruppe B 1,23 bis 1,3. Statistisch ist dies ein signifikanter Unterschied. Es ist festzustellen, daß zumindest innerhalb der ersten Stunde nach dem Volumenaustausch die O_2-Bindungszahl in beiden Gruppen nicht weiter abfällt.

Geht man davon aus, daß 100 Prozent aktives Hämoglobin eine Bindungszahl von 1,39 aufweist (40), so erhält man für Gruppe A nach der Reanimation einen Anteil von ca. 27 und für Gruppe B von ca. 11 Prozent an inaktivem

Hämoglobin.

Die folgende Abbildung zeigt den Verlauf von O_2-Angebot und O_2-Verbrauch.

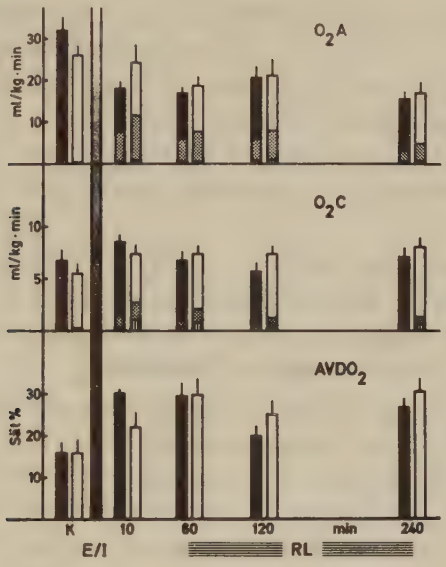


Abbildung 5

Ausgangswerte und Veränderungen des O_2-Angebots (O_2A) und des O_2-Verbrauchs (O_2C) durch Vollblut und Plasmahämoglobin. Aufgeführt ist ferner die $AVDO_2$ (Sätt.%) des Vollbluts.
(Gruppe A = schwarze Säulen, Gruppe B = weiße Säulen.
Anteil des Plasmahämoglobins = gerasterter Bereich der Säulen,
Anteil des physikalisch gelösten O_2 = gestreifter Anteil der Säulen (basal)
K = Kontrollen, E/I = Entblutungs/Infusionsphase
RL = Ringer-Laktat-Infusion)

Nach der Reanimation ist das O_2-Angebot des Vollbluts in Gruppe A auf 58, in Gruppe B auf 89,5 Prozent reduziert. Bei Versuchsende beträgt das Sauerstoffangebot in Gruppe A nur noch 51, in Gruppe B noch 68 Prozent vom Ausgangswert.

10 Minuten nach Austauschende trägt das Plasmahämoglobin in Gruppe A mit 40,3, in Gruppe B mit 47 Prozent zum Sauerstoffgesamtangebot bei. In den folgenden 4 Stunden fällt dieser Anteil in beiden Gruppen deutlich ab und beträgt am Ende in Gruppe A 19 und in Gruppe B 27 Prozent vom Gesamtsauerstoffangebot. Nach 240 Minuten ist das durch das Plasmahämoglobin vermittelte Sauerstoffangebot in Gruppe B signifikant höher als in Gruppe A.

Während des gesamten Versuchs fällt der O_2-Verbrauch nicht ab, er ist in Gruppe A nach der Reanimation eher leicht erhöht. In Gruppe B steigt der O_2-Verbrauch während des Versuchs kontinuierlich und liegt bei Versuchsende über 50 Prozent über dem Ausgangswert.

Von Anfang an ist der O_2-Verbrauch aus dem Plasmahämoglobin in Gruppe B deutlich höher als in Gruppe A. Statistisch signifikant wird der Unterschied allerdings erst bei den letzten beiden Abnahmen. Der prozentuale Beitrag des Plasmahämoglobins an der Gesamtsauerstoffaufnahme nimmt in beiden Gruppen mit zunehmender Versuchsdauer deutlich ab.

Tabelle 9

Ausgangswerte und Veränderungen des O_2-Angebots (O_2A) und der O_2-Aufnahme (O_2C) durch Vollblut und Plasmahämoglobin (ml/kg·min). Den beiden letzten Zeilen ist der prozentuale Anteil des Plasma-Hämoglobins an der O_2-Aufnahme aus dem Vollblut zu entnehmen.

		K	10′	60′	120′	240′
O_2A Vollblut (ml/kg · min)	A	3o,5 ±3,4	17,6^{s} ±1,7	16,4^{s} ±1,5	19,3^{s} ±2,3	15,5^{s} ±1,7
	B	25,6 ±2,3	22,9 ±4,1	18,1^{s} ±2,1	20,2^{s} ±3,6	17,3^{s} ±2,2
O_2A Pl.-Hb (ml/kg · min)	A	0	7,1 ±0,8	5,5$^{s'}$ ±0,3	5,3$^{s'}$ ±0,5	2,9$^{s'}$ ±0,1
	B	0	10,7 ±1,8	7,3$^{s'}$ ±0,8	7,3$^{s'}$ ±1,1	4,6$^{s'x}$ ±0,5
O_2C Vollblut (ml/kg · min)	A	6,7 ±1,0	8,3 ±0,7	6,4 ±0,9	5,5 ±0,9	7,1 ±0,7
	B	5,3 ±0,9	6,9 ±0,7	6,9 ±0,6	7,6 ±0,7	8,2 ±1,4
O_2C Pl.-Hb (ml/kg · min)	A	0	1,2 ±0,2	0,6$^{s'}$ ±0,2	0,5$^{s'}$ ±0,1	0,3$^{s'}$ ±0,1
	B	0	1,6 ±0,3	1,4 ±0,2	1,2^{x} ±0,1	0,9$^{s'x}$ ±0,1
O_2C Pl.-Hb (%)	A	0	14,5	9,4	9,0$^{s'}$	4,0$^{s'}$
	B	0	23,2	20,3	15,8$^{x'}$	11,0$^{sx'}$

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem jeweiligen Kontrollwert

s′ = signifikanter Unterschied gegenüber dem jeweiligen 10-Minutenwert.

x = signifikanter Unterschied zu Gruppe A.

Der Verlauf der 2,3-DPG-Konzentration und des p_{50} im Vollblut ist in Abbildung 6 dargestellt und der Tabelle 10 zu entnehmen.

10 Minuten nach Austauschende ist der 2,3-DPG-Gehalt pro Gramm Hämoglobin in Gruppe A auf 60 Prozent, in Serie B auf 61 Prozent gefallen. Während des Versuchs erfolgt in beiden Gruppen ein kontinuierlicher Anstieg. Nach 240 Minuten befinden sich die Werte in beiden Gruppen noch signifikant unter dem Kontrollwert, die Ausgangswerte werden erst in den postoperativen Tagen wieder erreicht.

Der p_{50} der konventionellen SFH-Lösung betrug in vitro in Gruppe A 13,2 mmHg, der der SFH-PLP-Lösung in Gruppe B jedoch 29,3 - 33,3 mmHg.

Erwartungsgemäß war in Gruppe A eine Stunde nach der Reanimation eine signifikante Erhöhung der Sauerstoffaffinität des Vollbluts festzustellen, die sich auch während der nächsten 4 Stunden nicht änderte.

Obwohl die SFH-PLP-Lösung in Gruppe B durch die Pyridoxylierung einen p_{50} von 29,3 - 33,3 mmHg aufwies, erfolgte eine Stunde nach der Wiederbelebung ein signifikanter Abfall des p_{50} im Vollblut auf 25,2 mmHg. 4 Stunden später war die Sauerstoffaffinität des Vollbluts noch angestiegen.

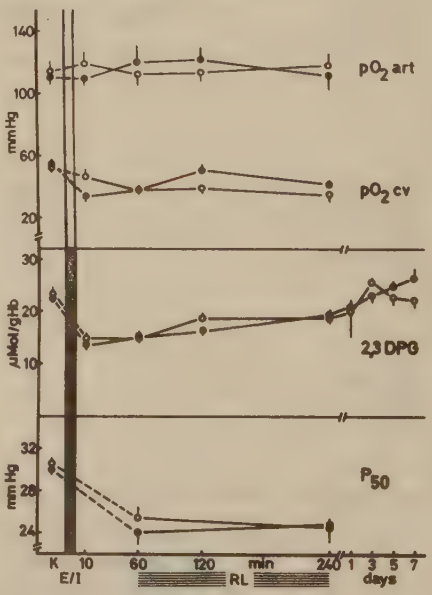


Abbildung 6

Verhalten des arteriellen und zentralvenösen pO_2, der 2,3-DPG-Konzentration (μMol/gHb) und des p_{50} (mmHg) im Vollblut nach Infusion von konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität und SFH-PLP-Lösung niedriger O_2-Affinität.

(●——● = Gruppe A,

○——○ = Gruppe B,

K = Kontrollwerte, E/I = Entblutungs-/Infusionsphase,

RL = Ringer-Laktat-Infusion)

Tabelle 10

Veränderungen des 2,3-DPG-Gehalts (µMol/gHb) und des p_{50} (mmHg) im Vollblut nach isovolämischem Austausch mit stromafreier Hämoglobinlösung niederer und hoher Sauerstoffaffinität.

		K	10'	60'	120'	240'	1. Tag	3.Tag	5.Tag	7.Tag
2,3-DPG (µMol/gHb)	A	22,6 ±1,0	13,6^{s} ±1,5	14,2^{s} ±1,1	16,3^{s} ±0,7	19,4^{s} ±0,6	21,0 ±1,4	22,2 ±1,3	24,9 ±0,9	26,5 ±2,0
	B	23,2 ±1,6	14,6^{s} ±1,3	15,0^{s} ±1,3	18,7^{s} ±1,2	18,8^{s} ±1,2	20,0 ±5,2	25,8 ±0,5	22,7 ±1,5	22,2 ±1,5
p_{50} (mmHg)	A	30,1 ±0,3		24,1^{s} ±1,2		24,8^{s} ±0,7				
	B	30,6 ±0,3		25,2 ±1,1		24,7 ±1,6				

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem Kontrollwert

In der folgenden Abbildung sind die Einzelwerte der O_2-Extraktion aus Plasmahämoglobin gegenüber den Werten der O_2-Extraktion aus Erythrozytenhämoglobin unabhängig vom zeitlichen Verlauf aufgetragen.

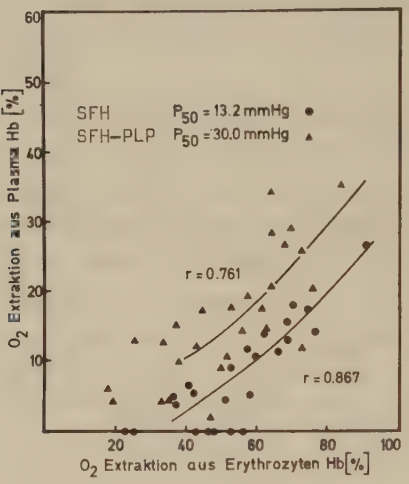


Abbildung 7

Dargestellt ist die O_2-Extraktion aus Plasmahämoglobin (Prozent des art. O_2-Gehalts im Plasma) in Abhängigkeit von der Extraktion aus dem Erythrozytenhämoglobin (Prozent des art. O_2-Gehalts im Erythrozyten). Die Kreise entsprechen den Werten der Gruppe A, die Dreiecke denen aus Gruppe B. Eingezeichnet sind die Einzelwerte aus allen Versuchen, sowie die Regression 3. Ordnung mit dem höchsten Korrelationskoeffizienten (gegenüber 1. und 2. Ordnung), wobei die obere Kurve der Gruppe mit pyridoxyliertem Hämoglobin und die untere Kurve der mit konventionellem Hämoglobin zugeordnet ist.

Es ist zu erkennen, daß in Gruppe A eine nennenswerte Extraktion - z. B. 10 Prozent - aus dem Plasmahämoglobin erst dann erfolgt, wenn ca. 60 Prozent des Erythrozytenhämoglobins entsättigt sind. In Gruppe B dagegen erhält man bei der gleichen Extraktion aus Erythrozytenhämoglobin eine ungefähr 20-prozentige Entsättigung des Plasmahämoglobins.

Tabelle 11

Gegenüberstellung des z e i t l i c h e n Verlaufs der Extraktionsraten aus Plasma- und Erythrozytenhämoglobin (%).

		K	10′	60′	120′	240′
Gr. A	Extr. Ery.Hb (%)	21,6 ±3,1	69,8 ±4,9	54,8 ±5,7	33,7 ±3,1	53,7 ±4,6
	Extr. Pl.-Hb (%)	-	16,4 ±2,4	10,6 ±2,8	8,7 ±2,2	9,2 ±2,5
Gr. B	Extr. Ery.-Hb (%)	21,2 ±3,9	45,3 ±8,2	52,7 ±6,7	49,8 ±5,1	60,1 ±7-5
	Extr. Pl.-Hb (%)	-	15,3 ±4,4	19,2 ±3,8	16,2 ±3,5	20,1 ±3,1

In Gruppe A wurden nach der Wiederbelebung 16,4 Prozent des an das Plasmahämoglobin gebundenen Sauerstoffs extrahiert. Gleichzeitig wurde jedoch das Erythrozytenhämoglobin zu fast 70 Prozent entsättigt. Die Extraktionsrate des Plasmahämoglobins fällt in dieser Gruppe mit zunehmender Versuchslänge ab. Die beiden letzten Messungen liegen signifikant unter dem 10-Minutenwert. Das Verhältnis $\text{Extraktion}_{\text{Pl.-Hb}} : \text{Extraktion}_{\text{Ery.-Hb}}$ verringert sich von anfangs 1 : 4,3 auf 1 : 5,8 am Ende des Versuchs. Das Plasmahämoglobin wird somit im Laufe des Versuchs zu einem immer geringeren Prozentsatz entsättigt.

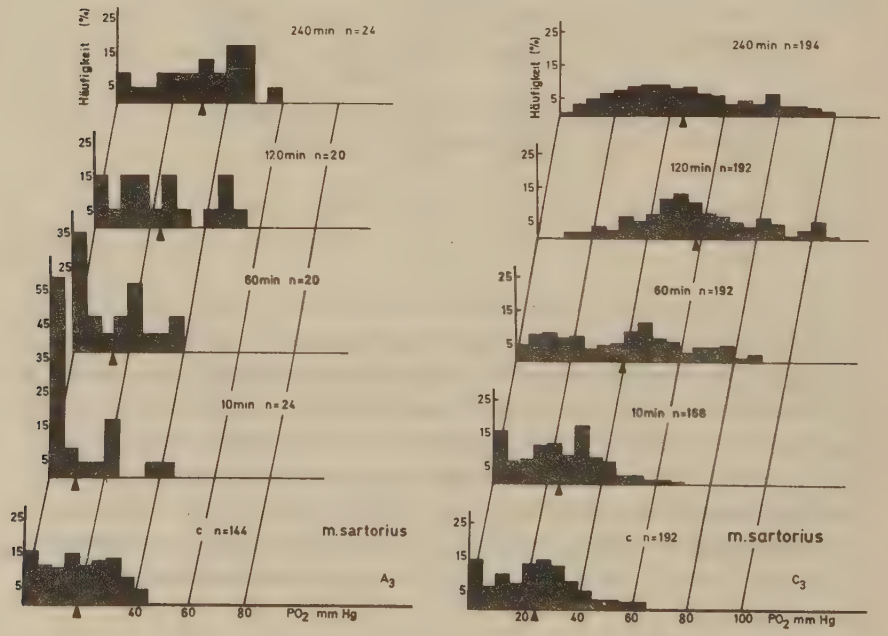
Die Extraktionsrate des Plasmahämoglobins in Gruppe B war 10 Minuten nach dem Austausch mit 15,3 Prozent praktisch genauso hoch wie in Gruppe A, obwohl das Erythrozytenhämoglobin mit 45 Prozent bei weitem noch nicht

so ausgeprägt entsättigt war, wie in Gruppe A.
In Gruppe B ist außerdem ein Abfall der Entsättigung des Plasmahämoglobins nicht feststellbar. Das Verhältnis Extraktion $_{Pl.-Hb}$: Extraktion $_{Ery.-Hb}$ beträgt während des gesamten Versuchs unverändert 1 : 3,0.

Der folgenden Abbildung sind die lokalen O_2-Drucke an der Oberfläche des M. sartorius zu entnehmen.

Abbildung 8

Gegenübergestellt sind die Histogramme der Sauerstoffpartialdrucke an der Oberfläche des M. sartorius vor und nach der Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität (Gruppe A = links) und SFH-PLP-Lösung niedrigerer Affinität.



Kontrollmessung: Die Verteilung der Gewebe-O_2-partialdrucke entspricht in Gruppe A nicht einem normalen Histogramm mit links schief glockenförmiger Gestalt (104). In Gruppe B erscheint das Histogramm mehr einer solchen Form angeglichen. Allerdings erfolgt auch hier eine eindeutige Anhäufung im Bereich niedrigster pO_2-Werte. 25 Prozent der Werte liegen in Gruppe A zwischen 0 und 10 mmHg, in Gruppe B sind es 20 Prozent.

10 Minuten nach der Reanimation: Hier zeigt das Histogramm in Gruppe A eine erhebliche Verschiebung der Gewebesauerstoffpartialdrucke in den Bereich niedrigster Werte. Im Gegensatz zu Gruppe A ähnelt das Histogramm in Gruppe B in den Absolutwerten, der Lage des Maximums und der Gesamtform bereits wieder den Kontrollwerten. In Gruppe A liegen 60 Prozent der gemessenen Werte unter 5 mmHg, in Gruppe B sind es nur 15 Prozent. In Gruppe A liegt das Maximum der Werte zwischen 0 und 5 mmHg, in Gruppe B bei ca. 20 mmHg. Zu berücksichtigen ist allerdings, daß bei dieser und allen folgenden Abnahmen der Gruppe A die Anzahl der Messungen mit der Platinmehrdrahtelektrode sehr gering war (n = 24 oder n = 20).

60 Minuten nach der Reanimation: In Gruppe A war das Histogramm vor Beginn der Ringer-Laktat-Infusion immer noch deutlich nach links verschoben, zeigt mehrere Gipfel und keine Glockenform. Es wurden keine Werte über 40 mmHg gemessen. In Gruppe B sind die pO_2-Werte relativ homogen von 0 bis 90 mmHg verteilt. Während in Gruppe A 55 Prozent aller Meßwerte unter einem pO_2 von 10 mmHg lagen, betrug dieser Wert in der anderen Gruppe nur 15 Prozent.

120 Minuten nach der Reanimation: Verglichen mit den Kontrollwerten, zeigt sich nun auch in Gruppe A eine Verbesserung der Gewebesauerstoffversorgung. Die Verteilungskurve erscheint homogener und gering nach rechts verschoben. Die unter Normalbedingungen vorliegende Glockenform des Histogramms ist aber nicht erkennbar. In Gruppe B ist eine

weitere Verbesserung der Mikrozirkulation zu erkennen. Das Histogramm ist noch weiter nach rechts verschoben und flach glockenförmig. Die pO_2-Werte liegen alle höher als 5 mmHg. Das pO_2-Maximum befindet sich bei ca. 50 mmHg.

Versuchsende: Hier zeigt das Histogramm in Gruppe A eine weitere Verschiebung nach rechts, es liegen aber immer noch 10 Prozent der Werte im hypoxischen Bereich von 0 bis 5 mmHg. In Gruppe B ist eine flache, weit ausgezogene Verteilungskurve von 0 bis 100 mmHg festzustellen.

Zusammenfassend ist zu erkennen, daß die Verbesserung der Gewebeoxygenierung in Gruppe B wesentlich rascher und besser erfolgt. Außerdem gelingt es in Gruppe A nicht, hypoxische Werte zu vermeiden. Es ist aber zu beachten, daß in Gruppe A die Anzahl der gemessenen Werte nach der Reanimation sehr klein ist.

2. 4. Elektrolyte und kolloidosmotischer Druck

Da in Gruppe A die Na-Konzentration der SFH-Lösung nur 90 mVal betrug, war 10 und 60 Minuten nach Austauschende ein signifikanter Abfall der Serum-Natriumkonzentration festzustellen (s. Abbildung 9 und Tabelle 12).

In Gruppe A ist auch ein geringer, vorübergehender Abfall des Serumkaliums bis zur 60. Minute festzustellen, da auch die Kaliumkonzentration der SFH-Lösung mit 1,7 meq/l stark erniedrigt war und die Dextranlösung Kalium-frei ist. Auch in Gruppe B war eine vorübergehende Verminderung der Serumkalium-konzentration zu beobachten. In den postoperativen Tagen liegt die Kalium-konzentration mit Werten über 4 meq/l statistisch über dem Ausgangswert.

Bedingt durch den hohen kolloidosmotischen Druck der konventionellen SFH-Lösung und des Dextran 60, liegt in Gruppe A 10 und 60 Minuten nach der Reanimation der kolloidosmotische Druck des Plasmas signifikant über dem Ausgangswert. Obwohl die SFH-PLP-Lösung ebenfalls hyperonkotisch war, ist in Gruppe B nach dem Volumenaustausch kein Anstieg des kolloidosmotischen Drucks im Plasma festzustellen.
Mit Einsetzen der Ringer-Laktat-Infusion erfolgt in beiden Gruppen ein deutlicher Abfall des kolloidosmotischen Drucks. Bei Versuchsende liegt er signifikant unter dem Kontrollwert, befindet sich jedoch am 1. post-operativen Tag bereits wieder im Normbereich. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen war nur 10 Minuten nach Austauschende festzustellen.

Tabelle 12

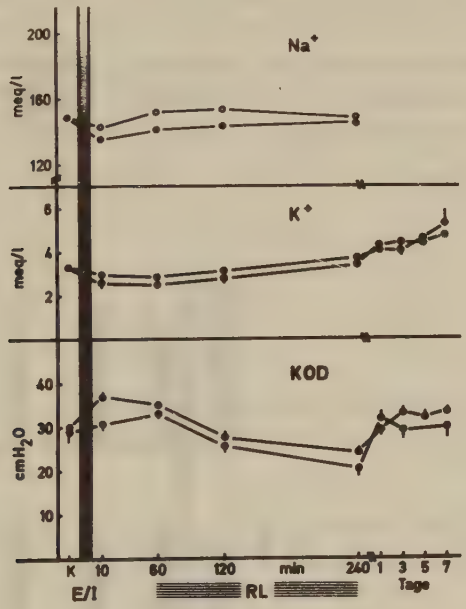
Veränderungen der Natrium- und Kaliumkonzentrationen (meq/l), sowie des kolloidosmotischen Drucks (KOD) (cm H_2O) im Plasma nach Reanimation durch konventionelle SFH-Lösung hoher O_2-Affinität und SFH-PLP-Lösung niedriger O_2-Affinität.

		K	10′	60	120′	240	1.Tag	3.Tag	5.Tag	7. Tag
Na (meq/l)	A	148,5 ±1,4	135,6^{s} ±1,3	141,4^{s} ±0,7	143,4 ±0,9	144,8 ±1,4				
	B	149,3 ±1,4	143^{x} ±1,6	148,9^{x} ±0,9	149,9^{x} ±1,5	147,4 ±0,7				
K (meq/l)	A	3,3 ±0,2	3,0^{s} ±0,1	2,8 ±0,1	3,1 ±0,1	3,7 ±0,1	4,1^{s} ±0,2	4,1^{s} ±0,3	4,5^{s} ±0,3	5,3^{s} ±0,7
	B	3,3 ±0,3	2,6^{s} ±0,2	2,5^{s} ±0,1	2,8^{s} ±0,2	2,4^{s} ±0,2	4,2 ±0,2	4,4 ±0,3	4,4 ±0,1	4,7 ±0,1
KOD (cm H_2O)	A	29,8 ±0,4	36,9^{s} ±1,1	35,1^{s} ±0,8	27,5 ±1,4	24,3^{s} ±1,1	28,9 ±1,2	32,9 ±1,2	32,0 ±1,4	33,4 ±0,9
	B	29,2 ±2,5	30,7^{x} ±1,6	33,0 ±0,8	25,6 ±1,6	20,3^{s} ±1,6	31,7 ±1,7	29,2 ±2,1	32,0 ±1,2	29,7 ±2,2

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem Kontrollwert
x = signifikanter Unterschied zu Gruppe A

Abbildung 9

Verlauf der Natrium- und Kaliumkonzentrationen (meq/l) sowie des kolloidosmotischen Druckes (mmHg) im Plasma.
(●——● = Gruppe A, o——o = Gruppe B,
K = Kontrollwerte, E/I = Entblutungs-/Infusionsphase,
RL = Ringer-Laktat-Infusion)



2. 5. Säure-Basenstatus, Bilirubin und Kreatinin

Wie aus Abbildung 10 und Tabelle 13 zu ersehen ist, fällt 10 Minuten nach der Reanimation der venöse pH in beiden Gruppen signifikant ab. Während er in Gruppe B nach Beginn der Ringer-Laktat-Infusion wieder annähernd in den Ausgangsbereich zurückkehrt, bleibt er in Gruppe A erheblich unter dem Kontrollwert.

In Gruppe A bleibt der zentralvenöse pCO_2 während des gesamten Versuches nach der Reanimation signifikant über dem Ausgangswert. In Gruppe B ist er die ersten beiden Stunden ebenfalls erhöht, kehrt aber gegen Versuchsende in den Ausgangsbereich zurück. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen besteht lediglich bei Versuchsende.

Abbildung 10

Ausgangswerte und Verlauf von zentralvenösem pH, pCO_2 und Standardbicarbonat.
(Gruppe A = schwarze Säulen,
Gruppe B = weiße Säulen,
K = Kontrollen
E/I = Entblutungs/Infusionsphase,
RL = Ringer-Laktat-Infusion)

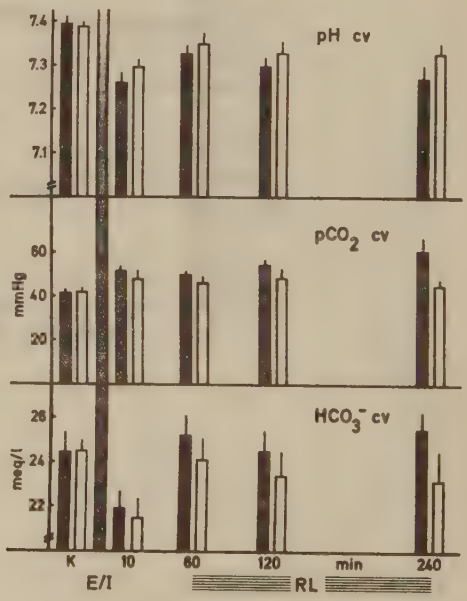


Tabelle 13

Ausgangswerte und Verlauf von zentralvenösem pH, pCO_2 und Standardbicarbonat

		K	10'	60'	120'	240'
pH	A	7,359 ±0,019	7,265^{s} ±0,026	7,325 ±0,022	7,291^{s} ±0,020	7,269^{s} ±0,034
	B	7,388 ±0,012	7,296^{s} ±0,017	7,348 ±0,024	7,327^{s} ±0,027	7,327^{s} ±0,026
pCO_2 (mmHg)	A	40,7 ±1,5	51.5^{s} ±2,3	49,8^{s} ±1,7	54,3^{s} ±2,9	61,2^{s} ±6,4
	B	42,1 ±2,0	48,2^{s} ±4,1	46,4^{s} ±2,6	48,4^{s} ±4,2	45,3^{x} ±2,8
HCO_3^- (meq/l)	A	24,4 ±0,9	21,9^{s} ±0,8	25,2 ±0,9	24,5 ±0,9	25,5 ±0,8
	B	24,5 ±0,5	21,5^{s} ±0,9	24,1 ±1,0	23,4 ±1,1	23,2 ±1,3

Signifikanz: s = signifikant gegenüber den Ausgangswerten
x = signifikanter Unterschied zu Gruppe A

In beiden Gruppen ist keine statistisch auffällige Veränderung des Gesamtbilirubins bei Versuchsende und in der ersten postoperativen Woche festzustellen (Abbildung 11 und Tabelle 14).

Das Serumkreatinin war in Gruppe B 120 Minuten nach Austauschende signifikant über den Ausgangswert erhöht. In den postoperativen Tagen lagen die Werte in beiden Gruppen im Normalbereich.

Tabelle 14

Kontrollwerte und Verlauf von Gesamtbilirubin und Serumkreatinin

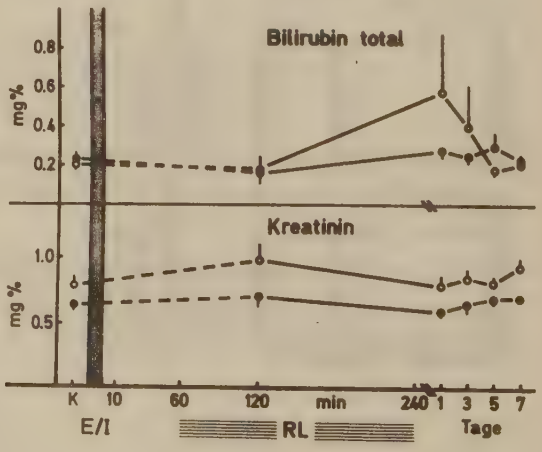
		K	120'	1.Tag	3.Tag	5. Tag	7.Tag
Bilirubin (mg%)	A	0,23 ±0,03	0,16 ±0,06	0,28 ±0,04	0,25 ±0,04	0,3 ±0,07	0,23 ±0,03
	B	0,64 ±0,05	0,71 ±0,08	0,6 ±0,04	0,65 ±0,06	0,69 ±0,04	0,7 ±0,03
Kreatinin (mg%)	A	0,64 ±0,05	0,71 ±0,08	0,6 ±0,04	0,65 ±0,06	0,69 ±0,04	0,7 ±0,03
	B	0,79 ±0,07	0,98^{s} ±0,13	0,79 ±0,08	0,84 ±0,08	0,81 ±0,06	0,93 ±0,08

Signifikanz: s = signifikant gegenüber dem Kontrollwert

Abbildung 11

Ausgangswerte und Verlauf von Gesamtbilirubin und Serumkreatinin nach Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität und SFH-PLP-Lösung niedriger O_2-Affinität

(●——● = Gruppe A,
○——○ = Gruppe B,
K = Kontrollwerte,
E/I = Entblutungs/Infusionsphase,
RL = Ringer-Laktat-Infusion).



3. Gewebeveränderungen

Zuerst werden die Organbefunde der Versuchstiere in Gruppe A aufgeführt, anschließend die der Tiere in Gruppe B, die überlebt haben. Abschließend werden die histologischen und funktionell auffälligen Befunde der 3 in Serie B vorzeitig gestorbenen Tiere abgehandelt.

Gruppe A:

Lunge: Hier wurde einmal histologisch ein mäßiges herdförmiges Lungenödem nachgewiesen. Je dreimal wurden beschrieben: Dystelektasen, Megakaryozyten in den Lungenkapillaren und Hämosiderin in Alveolarmakrophagen.
Einmal waren frische subpleurale Blutungen erkennbar.

Herz: Histologisch konnte bei einem Versuchstier eine geringe Siderose in einzelnen Kapillarendothelien nachgewiesen werden.

Leber: Bei 3 Hunden war eine Vacuolisierung der Hepatozyten nachgewiesen worden, deren Ausmaß von geringgradig feintropfig bis diffus und mittelgroßtropfig reichte. Hämosiderinablagerungen waren in 4 Fällen als Sternzellsiderose geringen bis mittelschweren Ausmaßes zu erkennen. Ein Tier wies eine abscedierte intrahepatische Cholangitis auf.

Niere: Bei einem Versuchstier fanden sich in den Glomeruli segmentale Narben, wobei z. T. Synechien mit dem parietalen Blatt der Bowman-Kapsel ausgebildet waren. Die Tubuli waren nur gering atrophisch. Der Pathologe interpretierte diesen Befund am ehesten als Folge von Mikroembolien.
Tubulusproteinzylinder wurden zweimal beschrieben. Feinstäubige Hämosiderinablagerungen in den Hauptstückepithelien, besonders im Bürstensaumbereich gelangten fünfmal zur Darstellung. Einmal wurden bei Eisenfärbung vereinzelt homogenblaue, abgestoßene Hauptstückkuppen gefunden.
Eisen positives Pigment wurde vereinzelt im Bereich der Bowman-Kapsel nachgewiesen.
In einem Fall beschrieb der Pathologe in der Nierenrinde eine Anhäufung von unreifen und atypischen lymphoreticulären Zellen, bei denen es sich möglicherweise um die Metastasen eines malignen Lymphoms handeln könnte.

Gruppe B:

Überlebende Tiere (n = 4):

Lunge: Dreimal wurden Dystelektasen, zweimal hämosiderinspeichernde Makrophagen nachgewiesen.
In einem Fall wurde ein Bezirk beschrieben, der durch eine hochgradige Hyperämie, sowie ein Alveolarödem mit Erythrozyten in den Alveolarräumen auffiel. Der Pathologe deutete dies als eventuelles Anfangsstadium eines hämorrhagischen Infarktes.

Herz: Histologisch wurden einmal kleine, nicht mehr ganz frische Myozytolysen nachgewiesen.

Leber: Eine Vacuolisierung der Hepatozyten war bei allen überlebenden Tieren aufgetreten, wobei in der Regel alle Zellen eine feinvacuoläre Schwellung aufwiesen.
Eine hochgradige Sternzellsiderose und Eisenspeicherung in perivasalen Makrophagen war bei einem Versuchshund aufgefallen.
Ein Versuchstier, das am 7. Tag als klinisch unauffällig getötet worden war, zeigte Läppchenzentral ältere Nekrosen. Während des Versuchs war bei ihm plötzlich eine Urticaria aufgetreten.

Niere: Bei 3 Hunden wurde eine gering bis mäßiggradige, feinstäubige Hämosiderinablagerung im Bürstensaum und Zytoplasma von Epithelzellen des proximalen Tubulus aufgezeigt.

Vorzeitig gestorbene Versuchstiere (n = 3):

Bei einem postoperativ verstorbenen Tier fand sich herdförmig in den Bronchien und Alveolen amorphes, stark bekterienhaltiges Material, was am ehesten mit einer Aspiration zu vereinbaren wäre. Die Niere zeigt den Befund einer chronischen Pyelonephritis. In der Leber kamen neben einer feinvacuolären Verfettung läppchenzentral frischere Nekrosen zur Darstellung. Am Herz wurde kein pathologischer Befund erhoben.
Gegen Versuchsende war bei diesem Tier eine respiratorische Azidose aufgetreten (pH = 7,272; Alkalireserve = 28,1 meq/l), die sonst in dieser Gruppe nicht registriert worden war. Auffallend war außerdem der enorm

hohe Ringer Laktat-Verbrauch (201 ml/kg). Ferner wurde während der 2. Versuchshälfte praktisch kein Sauerstoff aus dem Plasmahämoglobin extrahiert.

Der 2. postoperativ verstorbene Hund begann bereits während des Versuchs aus Nase und Tubus zu bluten. Bei Versuchsende betrug die Hämoglobinkonzentration im Vollblut nur noch 2,5 g%.
Der kolloidosmotische Druck lag bei 16 cm H_2O, da mit Ringer-Laktat versucht wurde, den Volumenverlust auszugleichen. Es wurde der höchste Ringer-Laktat-Verbrauch von beiden Versuchsserien erzielt (224 ml/kg).
Pathologisch-anatomisch wurden bei diesem Tier in der Lunge nur geringe Atelektasen nachgewiesen. Herz und Nieren waren unauffällig, die Leber zeigte eine mäßige feintropfige Vacuolisierung.

Der 3. Hund starb in der ersten Nacht nach dem Versuch. Er bot bereits zu Beginn des Versuchs verschiedene schlechte Voraussetzungen:

1. Er hatte den niedrigsten Ausgangshämatokrit (25 %) und Hämoglobingehalt (9,7 g%).
2. Er hatte den niedrigsten arteriellen Ausgangsdruck (95 mmHg) und den niedrigsten rechtsatrialen Druck (1,5 mmHg).
3. Bei ihm trat die massivste Bradycardie nach der Reanimation auf (K = 150/min; 10 Minuten nach Austauschende betrug die Frequenz nur noch 80/min).
4. Die Folge dieser Bradycardie war ein nur geringer Anstieg des Herzzeitvolumens.

Während des Versuchs stieg bei ihm im Gegensatz zu allen anderen der totale periphere Widerstand von K = 0,65 auf 0,9 bei Versuchsende. Ferner war er der einzige Hund, bei dem der arteriolären Lungengefäßwiderstand gegen Versuchsende etwas über den Kontrollwert anstieg, während er bei allen anderen Tieren zu diesem Zeitpunkt gut die Hälfte des Kontrollwertes aufwies.
Der kolloidosmotische Druck betrug bereits nach 120 Minuten nur 20 cm H_2O, bei Versuchsende lag er mit 14 cm H_2O von allen Messungen am tiefsten.
Histologisch zeigte die Lunge ein diffuses Ödem, sowie in einzelnen Pulmonalarterienästen ganz frische, nicht wandadhärente Emboli. Im Myocard war ein herdförmiges interstitielles Ödem nachzuweisen. Die Leber wies azino-zentral eine geringe Stauungshyperämie, sowie einzelne Leberzellnekrosen auf. Ferner wurde eine feine Vacuolisierung der Hepatozyten und eine mittelgradige Sternzellsiderose nachgewiesen. Der Nierenbefund unterschied sich nicht von den überlebenden Tieren.

D. DISKUSSION

1. Kriterien für die Wirksamkeit von kolloidalen Blutersatzlösungen und die theoretischen Vorteile von stromafreien Hämoglobinlösungen.

Heute gebräuchliche erythrozytenfreie, kolloidale Volumenersatzmittel sind natürliche (Plasmalösungen, Humanalbumin) und künstliche Kolloide (Dextran, Gelatine, Stärke). Ihre unbestritten dringlichste Indikation stellt die Behandlung der Hypovolämie dar, wobei ausreichender Volumeneffekt und die Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes als die entscheidenden Kriterien ihrer therapeutischen Wirksamkeit anzusehen sind.

In der Volumenwirksamkeit der verschiedenen Präparate bestehen große Unterschiede. Die intravasale Verweildauer (t/2) wird für Plasmaproteine mit 4 - 15 Tagen, für Dextran 60 und Hydroxyäthylstärke mit 6 Stunden und für Gelatine und Dextran 40 mit 2 - 3 Stunden angegeben (151).
Entsprechend den Richtlinien des American National Research Council (135) sollte die intravasale Halbwertszeit eines Blut- oder Plasmaersatzmittels 6 - 12 Stunden betragen.

Ausschlaggebend für die Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes ist - unter normovolämischen Bedingungen - die überproportionale Verminderung der Viskosität durch die lineare Senkung des Hämatokrit (113,114,115,116, 120,122,162), was nicht nur zu einer Steigerung des Herzzeitvolumens (114, 115,118,122) und der Kapillardurchblutung (114,115,116,118,120), sondern zugleich zu einer entscheidenden Verbesserung der Sauerstoffversorgung der Gewebe führt (115,117,120).
Weitere, die Viskosität von Vollblut beeinflußende Faktoren sind die Eigenviskosität der Kolloidlösung, sowie ihre onkotische Aktivität und ihre Ausscheidungscharakteristik (162).
Bei Verwendung erythrozytenfreier, kolloidaler Lösungen tritt aber nur dann kein Sauerstoffmangel der Gewebe ein, wenn unter normovolämischen Bedingungen ein kritischer Hämatokritwert von 25 - 20 Prozent nicht unterschritten wird (115,116,118,120) und wenn die akute Verdünnungsanämie cardiorespiratorisch voll kompensiert werden kann. Fehlt eine dieser Voraussetzungen, so kann die durch die Viskositätssenkung bewirkte Verbesserung der Fließeigenschaften die verdünnungsbedingte Abnahme des Blutsauerstoffgehalts nicht mehr ausreichend kompensieren (120).

Von einem idealen Blutersatzmittel wäre daher neben guter Volumenwirksamkeit und signifikanter Viskositätssenkung die Fähigkeit zum Sauerstofftransport zu fordern. Die Transfusion von Vollblut ist bei der Primärtherapie des akuten Volumenmangels - unabhängig von weiteren Nachteilen - aus hämorheologischen Gründen abzulehnen. Vollblut ist zwar gut volumenwirksam und hält den Blutsauerstoffgehalt konstant, senkt aber nicht die Viskosität, d. h. bestehende Mikrozirkulationsstörungen werden nicht aufgehoben, sondern eher verstärkt (111,119,121,123).

Stromafreie Hämoglobinlösung dagegen weist dem Vollblut gegenüber einige bestechende theoretische Vorteile auf: Sie ist eine Newton'sche Flüssigkeit (63,67,164,185,189) mit sehr niedriger, bei allen Schergraden konstanter Eigenviskosität. Durch vollständige Entfernung der Stromata entfällt das Problem der Typisierung und der Sensibilisierung, da Membranstrukturen und Antigendeterminanten fehlen (127). Im Gegensatz zu Vollblut kann stromafreie Hämoglobinlösung - wie Albumin - hepatitissicher hergestellt und nahezu unbegrenzt gelagert werden. Da stromafreie Hämoglobinlösung aus überalterten, bisher verworfenen Erythrozyten hergestellt werden kann, könnte theoretisch ein bisher nicht ausgenütztes Reservoir natürlicher Kolloide für die Volumentherapie verwendet werden.

Trotz dieser theoretischen Vorteile ist in naher Zukunft nicht mit der Einführung von stromafreien Hämoglobinlösungen als Blutersatzlösungen zu rechnen. Einer klinischen Anwendung stehen bislang die potentielle Nephrotoxicität, die ungenügende Volumenwirksamkeit und die hohe Sauerstoffaffinität gegenüber.

2. Die Auswirkungen stromahaltiger und stromafreier Hämoglobinlösungen auf die Nierenfunktion.

Bis 1967 wurden verschiedene, vermeintlich stromafreie Hämoglobinlösungen in unterschiedlichen Mengen an Tieren (1,2,16,55,67,72,77), freiwilligen Versuchspersonen und Patienten getestet (3,26,136).
An funktionellen Nierenstörungen wurden registriert: Urin mit niedrigem spezifischem Gewicht (55), Albuminurie (55), Erniedrigung des renalen Plasmaflusses (26,77), Abfall der glomerulären Filtrationsrate (16,26,77), Oligurie bis Anurie (1,26,72,77) sowie Azotämie bis Urämie (4,55,67,72). Pathologisch anatomisch waren die Nieren bei der Sektion geschwollen (1,2,77). Histologisch erkannte man eine mehr oder minder starke Obstruktion der Tubuluslumina durch Präzipitate von Hämoglobin oder Hämoglobin-

derivaten (1,4,55,72,77). Viele Autoren beschrieben Tubulusnekrosen unterschiedlicher Ausprägung (4,55,72,77). Hämoglobinpräzipitate in den Glomeruluskapillaren (1,77) und in den Vasa recta (77) wurden selten erfaßt.

Erheblich verstärkt wurden die funktionellen und histologischen Nierenveränderungen durch Dehydration (72,77), Azidose (37) und Methämoglobininfusion (16,72).
Die nach der Infusion der vermeintlich stromafreien Hämoglobinlösungen beobachteten funktionellen und histologischen Nierenveränderungen entsprachen qualitativ den nach der Infusion frischer, ungereinigter Hämolysate aufgetretenen Nierenschäden (4,37,57,128).
Die Pathogenese der Nierenschädigung blieb lange unklar. GOLDBERG nahm als primäre Ursache des Nierenschadens die Obstruktion der Tubuluslumina durch Präzipitate von Hämoglobin, Methämoglobin und anderer Hämoglobinderivate an (59).
JAENICKE war der Ansicht, daß die Präzipitatbildung sekundäre Folgen von Tubuluszellnekrosen sei, die durch Ischämie hervorgerufen würden (77).

Es war das Verdienst von RABINER et al. (144) eine stromafreie Hämoglobinlösung (=SFH-Lösung) herzustellen, die auch in großen Mengen infundiert, keine Nephrotoxicität aufwies. Basierend auf den Arbeiten verschiedener Autoren (5,70,107,142,143) hatte er als Pathogenese der Nierenschädigung durch Hämoglobinlösungen eine durch die Erythrozytenstromata ausgelöste disseminierte intravasale Gerinnung erkannt. Im Gegensatz zu früheren Autoren (1,2,3,67,68,69,139) gelang es ihm erstmalig, die Erythrozytenstromata vollständig zu entfernen, wobei für die Entfernung der partikulären Stromata die entscheidenden Schritte in der Ultrazentrifugation und der Filtration durch 0,1 - 0,2 µ Milliporefilter zu sehen sind.
Zur Entfernung nicht partikulärer Stromalipide verwendete er bei der Hämolyse einen hypotonen Phosphatpuffer mit einem pH von 7,4 nach DODGE et al. (41). Das Fehlen von Gerinnungsstörungen nach Inkubation seiner Hämoglobinpräparation in intaktem Plasma diente als Kriterium für die Reinheit der Lösung.

In Hundeversuchen konnten RABINER et al. (144) demonstrieren, daß es nach isovolämischem Austausch von 20 - 40 ml/kg Blut gegen 7%-ige heterologe SFH-Lösung weder zu einer Verringerung der Urinausscheidung, noch zu einer Verringerung der glomerulären Filtrationsrate und des renalen Plasmaflußes kam. Dabei ging dem Volumenaustausch die Infusion von 75 ml/kg isotoner Kochsalzlösung innerhalb von 45 Minuten voraus, gefolgt von vier je

30 Minuten dauernden Clearanceperioden, deren Mittelwert als Kontrollwert eingesetzt wurde. 45 Minuten und 2 - 5 Tage nach dem Volumenaustausch wurden dann ebenfalls Clearance-Messungen durchgeführt. Die histologische Untersuchung der Nieren zeigte keine Tubuluszellveränderungen und nur vereinzelt tubuläre Hämoglobinablagerungen, obwohl den Versuchstieren 1,4 - 3,3 Gramm Hämoglobin/kg infundiert worden waren.

Die fehlende Nephrotoxizität von SFH-Lösungen wurde bei Hunden (50,140,145, 146,147,148,149,153), Cynomolgusaffen (17) und Zwergschweinen (186) bestätigt. Dabei gelangten unterschiedliche Versuchsmodelle zur Anwendung: Einige Autoren infundierten normovolämischen Versuchstieren (17,147,148, 149,153) eine definierte Hämoglobinmenge, andere tauschten Vollblut isovolämisch gegen SFH-Lösung aus (17,140,145,146). Als weiteres, dem klinischen Schockgeschehen adäquateres Modell wurden Versuchstiere einer hämorrhagischen Hypotension unterzogen (74,140,186).

RELIHAN et al. infundierten normovolämischen Hunden 0,75 - 0,85 g Hb/kg in Form einer, aus überalterten Humanerythrozyten hergestellten, heterologen SFH-Lösung. Sie stellten weder funktionelle noch histologische Nierenveränderungen fest (147).

Auch nachdem Hunden homologe SFH-Lösung in einer Menge von 1,7 - 2,2 g Hb/kg infundiert worden war, fanden RUDOWSKI et al. (153) in den folgenden 48 Stunden normale Clearancewerte für Harnstoff und Kreatinin. Allerdings war die Serumkreatininkonzentration bis zu 40 Prozent und die Serumharnstoffkonzentration bis zu 100 Prozent über den Kontrollwert angestiegen. Histologisch waren keine Veränderungen nachweisbar, die auf die Hämoglobinlösung zurückzuführen gewesen wären.

Selbst wenn die Versuchsbedingungen durch eine der SFH-Infusion vorausgehende Periode renaler Ischämie, chronischer Azidose (148,149) oder Dehydration (140) verschärft worden waren, traten keine nephrotoxischen Nebenwirkungen auf.

Über eine minimale funktionelle Nierenstörung in Form eines geringgradig Abfalls der PAH-, Inulin- und endogenen Kreatininclearance berichten dagegen BIRNDORF und LOPAS, nachdem sie Cynomolgusaffen 1,2 g Hb/kg infundiert hatten (17). Ferner trat bei 6 weiteren Affen nach dem Austausch von 1/4 des Sollblutvolumens gegen 7%-ige SFH-Lösung eine Verringerung der PAH-Clearance auf 60 Prozent des Ausgangswertes auf. Da aber Inulin- und endogene Kreatininclearance unverändert waren und außerdem die PAH-Clearance

nach einigen Stunden wieder auf den Kontrollwert anstieg und histologisch keine glomerulären oder tubulären Schäden nachzuweisen waren, werten die Autoren die beobachteten Störungen als geringe, vorübergehende Tubulusschädigung. Erstaunlicherweise waren keinerlei funktionelle und histologische Veränderungen festzustellen (bis auf einzelne tubuläre Hämoglobinzylinder), wenn einem gleich großen Blutaustausch eine 48 Stunden dauernde Dehydrationsperiode vorausging.
Ebenfalls keine histologisch nachweisbaren Nierenveränderungen fand ENDRICH (50) bei Blutaustausch gegen 6%-ige SFH-Lösung, nachdem Hunden 2,4 g Hb/kg infundiert worden waren.

Da sich eine potentielle Nephrotoxizität von SFH-Lösungen bei durch einen Schock geschädigten Nieren besonders fatal auswirken würde, wurden Nierenfunktion und -histologie von verschiedenen Autoren (74,140,186) anhand eines experimentellen Schockmodells untersucht.

Hier konnten PESKIN et al. nach 1-stündiger hämorrhagischer Hypotension von 30 mmHg nach der Reanimation mit 25 ml/kg SFH-Lösung keine auffallenden Nierenschäden feststellen (140). UNSELD registrierte während einer 3-stündigen hämorrhagischen Hypotension bis 40 mmHg bei Zwergschweinen einen signifikanten Anstieg von Kreatinin, Harnstoff und Harnsäure (186). Während aber die Harnsäure sofort nach Infusion von durchschnittlich 27,3 ml/kg SFH-Lösung auf Normalwerte abfiel, waren die Kreatininwerte erst am nächsten Tag nicht mehr signifikant vom Ausgangswert verschieden, die Serumharnstoffkonzentration war immer noch leicht erhöht. Bei Kontrolltieren, die Vollblut statt SFH-Lösung erhalten hatten, waren am folgenden Tag alle Werte wieder normal. Die endogene Kreatininclearance kurz nach der Infusionstherapie war sowohl nach SFH-Lösung als auch nach Vollblut signifikant erniedrigt. Somit werden durch einen hämorrhagischen Schock bedingte Nierenfunktionsstörungen durch eine Reanimationstherapie mit SFH-Lösungen weniger günstig beeinflußt, als durch eine - keineswegs als optimal anzusehende - Primärtherapie mit Vollblut.

Auch der Reanimationstherapie mit Gelatinelösung gegenüber, erwies sich SFH-Lösung als nicht überlegen. Dies belegen Versuche von HERRMANN und LÖBELENZ (74), die bei Hunden nach einem Blutentzug von insgesamt 50,4 ml/kg den Blutdruck über ca. 100 Minuten auf 40mmHg fixierten. Anschließend wurden die Tiere mit 41 ml/kg einer 6%-igen SFH-Lösung nach BONHARD (21,25) reanimiert. Einer Kontrollgruppe wurden 46,3 ml/kg Blut entzogen und insgesamt 52,3 ml/kg Gelatinelösung (Gelifundol ^{R}) infundiert. Blutvolumen-

messungen ergaben in beiden Gruppen eine ausgeprägte Hypovolämie. In beiden Gruppen war ein signifikanter Abfall der endogenen Kreatininclearance festzustellen. Histologisch fanden sich aber, außer diskreten Zeichen einer abgelaufenen Schockreaktion, keine Hinweise auf ein Schädigung durch das Hämoglobin.

Faßt man alle bisher genannten Arbeiten zusammen (17,50,74,140,144,145,146, 147,148,149,153, 154), so wurden vereinzelt funktionelle Störungen (17,153 154,188), jedoch nie massive histologische Veränderungen nach der Infusion von SFH-Lösungen beschrieben.

In den letzten 2 Jahren wurden jedoch Arbeiten veröffentlicht, die nach SFH-Lösungen qualitativ gleiche - teils schwere - Nierenschäden beschreiben, wie sie nach stromahaltigen Lösungen aufgetreten waren (29,57,171,173,185). Einen deutlichen Anstieg der Serumkonzentrationen von Kreatinin, Harnstoff und Kalium, sowie schwerste morphologische Nierenveränderungen bis zur totalen Nierenrindennekrose beobachteten BURCK et al. (29), nachdem sie Kaninchen 1,8 g Hämoglobin/kg in Form einer von BONHARD (21,25) aus Humanerythrozyten hergestellten 6%-igen SFH-Lösung infundiert hatten. Von MESSMER et al. (127) und ENDRICH (50) wurden für diesen Befund speziesspezifische Faktoren nicht ausgeschlossen, da Humanhämoglobin von anderen Spezies (Affe, Hund, Zwergschwein) gut toleriert worden war.
Diese These wird jedoch durch die Ergebnisse von COCHIN et al. (32) und LABRUDE et al. (97,98) widerlegt, die bei Kaninchen nach Infusion von SFH-Lösungen anderer Hersteller keine Hinweise auf eine schwere Nierenschädigung fanden.

LABRUDE et al. (97,98) infundierten Kaninchen 0,2 - 0,3 g Hämoglobin/kg als SFH-Lösung. Sie fanden keine Veränderungen in Urinvolumen, Urin pH, sowie der Natrium- und Kaliumausscheidung. Enthielt die Hämoglobinlösung jedoch 20 Prozent Methämoglobin, so beobachteten sie nicht nur eine Veränderung im Verhalten der Tiere (sie fraßen und tranken nicht mehr), sondern auch eine Verringerung des Urinvolumens und -pH, sowie einen massiven Abfall der Natrium- und Kaliumausscheidung. Nach Infusion einer nach RABINER (144) aus Human-Erythrozyten hergestellten SFH-Lösung führten COCHIN et al. (32) bei Kaninchen zwar keine Nierenfunktionsprüfungen durch, fanden aber histologisch keine Nierenschäden, wohl aber Glomerulum- und Tubulusschäden nach der Infusion frischer Erythrozytenhämolysate.

Auch bei Ratten traten nach der Infusion von heterologer SFH-Lösung schwerste funktionelle (173) und ausgeprägte histologische Schäden (57,171) auf.

SCHNEIDER (171) und FÖRSTER (57) beschreiben nach der Infusion von 18 ml einer 6%-igen SFH-Lösung (hergestellt von BONHARD) bei Ratten Nekrosen von Tubulusepithelien mit zahlreichen Mitosen, sowie reichlich Hämoglobinzylinder. Auch eine Leberzellschädigung war nachweisbar (siehe auch Kap.9.1.)

Einen Abfall der Kreatininclearance auf 50 Prozent des Kontrollwertes stellten SCHUBERT et al. (173) bei 10 Ratten nach der Infusion von 2 g Hämoglobin/kg fest. Auch nach 48 Stunden lag die Kreatininclearance noch deutlich unter dem Ausgangswert. Wurde 30 Minuten nach der Hämoglobininfusion durch 1-stündige Nierenhilusabklemmung eine Nierenischämie ausgelöst, so fiel die Kreatininclearance sogar auf 4,3 Prozent (!) des Kontrollwertes ab. Lichtmikroskopisch verifizierten die Autoren Koagulationsnekrosen, besonders in der Nierenrinde und Markaußenzone. Es muß darauf hingewiesen werden, daß in diesen Versuchen von SCHUBERT et al. mit einer von BONHARD (21,25) hergestellten 16%-igen (!) Lösung die bisher in der Literatur mit Abstand höchstkonzentrierte SFH-Lösung verwendet worden war.
Weiter gegen eine spezies-spezifische Nierenschädigung durch SFH-Lösungen sprechen Versuche, die von SZTUKA et al. (185) an Hunden durchgeführt wurden. Nach der Infusion von 20 ml/kg einer 5,5%-igen Lösung starben 8 von 18 Hunden in der folgenden Nacht. Auf die Todesursache wird von den Autoren nicht eingegangen. Am ehesten muß wohl eine massive Hypovolämie diskutiert werden. Pathologisch-anatomisch verifizierten SZTUKA et al. geschwollene Nieren - ein erhöhtes Nierengewicht ist ein sehr empfindlicher Indikator einer akuten Nierenschädigung (173) - sowie in einigen Fällen Tubulusnekrosen.

Nach diesen Arbeiten erscheint es nicht mehr gerechtfertigt, die beobachteten Nierenschäden ausschließlich als speziesspezifisch zu interpretieren.

Auffallend ist, daß die schweren funktionellen (29,173) und histologischen Veränderungen (29,57,171,173) - bis auf eine Arbeit (185) - nur dann auftraten, wenn eine von BONHARD hergestellte SFH-Lösung infundiert wurde.

Andererseits berichten verschiedene Autoren über Versuche an Hunden (50,74, 180) und Miniaturschweinen (186,187,188), die nach Anwendung stromafreier Hämoglobinlösung gleicher Provenienz keine stärkeren funktionellen und histologischen Schäden fanden.

Bis auf die Versuche von UNSELD (188) waren jedoch durchweg alle Versuchstiere in den verschiedenen Arbeitsgruppen heparinisiert, um eine thrombotische Verlegung der Katheter zu verhindern. Eine potentielle Schädigung

der Nieren durch eine disseminierte intravasale Gerinnung auf Grund von Stromataresten in der Hämoglobinlösung konnte somit nicht untersucht werden!

Auch in den vorliegenden Versuchen waren die Hunde heparinisiert. Theoretisch wäre durch den isovolämischen Austausch von 2/3 des Sollblutvolumens durch SFH-Lösung und Dextran 60 im Verhältnis 4 : 1 und die nach 1 Stunde einsetzende Ringer-Laktat-Infusion ein verdünnungsbedingter Abfall des Serumkreatinins zu erwarten gewesen. In Gruppe A jedoch entsprach die Serumkonzentration des Kreatinins bei Versuchsende dem Kontrollwert, in Gruppe B lag sie sogar signifikant über dem Ausgangswert.

Auch UNSELD stellte fest, daß nach der Infusion von 650 ml SFH-Lösung bei normovolämischen Miniaturschweinen die Serumkonzentration des Kreatinins nach 3 Stunden und am nächsten Tag den Kontrollwerten entsprach, während nach der Infusion der gleichen Menge 5%-iger Albuminlösung ein deutlicher Abfall zu registrieren war (188).

Allerdings war bei unseren Versuchen nicht die Kreatininkonzentration der SFH-Lösung gemessen worden, so daß keine Aussage darüber gemacht werden kann, ob der zumindest in Gruppe B signifikant erhöhte Serumkreatininwert durch eine hohe Kreatininkonzentration in der SFH-Lösung oder durch eine funktionelle Nierenschädigung verursacht wurde.

Nachdem also einerseits nach der Infusion einer von BONHARD hergestellten SFH-Lösung bei Versuchstieren ohne vorausgehende Heparinmedikatation Nierenschäden aufgetreten waren, wie sie nach stromahaltigen Lösungen beschrieben wurden (29,32), und andererseits nach vorausgehender Heparinapplikation solche Schäden nicht auftraten, ist als Ursache der Nierenschädigung in den zitierten Arbeiten am ehesten eine disseminierte, intravasale Gerinnung infolge ungenügender Stromataentfernung durch das Verfahren von BONHARD (25) zu diskutieren.

Eine 100%-ige Entfernung korpuskulärer und löslicher Stromabestandteile muß aber von einer klinisch anwendbaren SFH-Lösung verlangt werde, da ihre Hauptindikation der akute Blutverlust sowie schockbedingte Mikrozirkulationsstörungen darstellen, die häufig durch die endogene oder exogene Freisetzung prokoagulatorischer Aktivitäten kompliziert werden. So können Zustände der Hyperkoagulabilität primär ausgelöst werden durch Stase, Azidose, Endotoxine, Fettembolie, Hämolyse, Einschwemmung von Gewebethromboplastin und -kinasen beim traumatischen und Verbrennungsschock (54). Die Infusion einer stromahaltigen Hämoglobinlösung entspräche somit einem

massiven Einstrom thromboplastischer Aktivität.

Wenn auch verschiedene Autoren anhand von in vitro- (20,39,88,144,146) und in vivo- Gerinnungstests (17,20,32,48,87,144,166,190) nach Blutersatz durch SFH-Lösung keine Gerinnungsstörungen finden konnten, so erscheint es erforderlich, nach dem Verfahren von BONHARD hergestellte SFH-Lösungen auf verbliebene, das Gerinnungssystem beeinflußende partikuläre oder lösliche Stromabestandteile zu untersuchen.

Doch selbst wenn sich konventionelle SFH-Lösung nach vollständiger Entfernung von Stromataresten nicht nephrotoxisch erweisen sollte, so stehen die ungenügende Volumenwirksamkeit und die hohe O_2-Affinität einer klinischen Anwendung entgegen.

3. Volumenwirksamkeit

Voraussetzung für die adäquate Volumenwirksamkeit einer kolloidalen Blutersatzlösung sind eine möglichst hohe Wasserbindungskapazität, eine ausreichende intravasale Verweildauer und die Fähigkeit, einen konstanten kolloidosmotischen Druckgradienten zwischen Intra- und Extravasalraum aufrecht zu erhalten.

3. 1. Wasserbindungskapazität

Über die Wasserbindungskapazität pro Gramm freien Hämoglobins liegen bisher in der Literatur keine Angaben vor. Von den herkömmlichen kolloidalen Blutersatzlösungen mit hoher Wasserbindungskapazität sind vergleichsweise Albumin und Dextran 60 aufzuführen, die pro Gramm 17,4 bzw. 25,6 ml Wasser binden (64).

3. 2. Intravasale Verweildauer von SFH- und SFH-PLP-Lösungen

Basierend auf den in der Literatur vorhandenen Angaben wurde eine Übersicht über die - weit differierenden - Angaben zur intravasalen Verweildauer von konventionellen SFH- und SFH-PLP-Lösungen erstellt (Tab. 15). Um die intravasale Halbwertszeit exakt zu bestimmen, müssen die Konzentrationsänderung des freien Hämoglobins und die des Blutvolumens simultan gemessen werden. Die meisten Autoren haben aber bei ihren "Halbwertszeitbestimmungen" nur den Zeitpunkt bestimmt, zu dem die Konzentration des freien Hämoglobins im Plasma auf die Hälfte abgefallen war ohne dabei gleichzeitige Veränderungen des Blutvolumens zu berücksichtigen (17,57, 61,144,171,185,188).

HERRMANN und LÖBELENZ führten bei ihren Versuchstieren eine radioaktive Markierung autologen Albumins durch und korrelierten die Veränderung des Plasmavolumens mit der des freien Hämoglobins (74). Allerdings erfolgte die Bestimmung der Halbwertszeit erst, nachdem die Hunde nach einer ca. 100 Minuten dauernden hämorrhagischen Hypotension (Entblutungsvolumen = 48 ml/kg) nur mit 30 ml/kg SFH-Lösung reanimiert worden waren. Sie wiesen eine ausgeprägte Hypovolämie auf, die aber von allen überlebt wurde. Bereits 1970 jedoch hatte MESSMER und SEIFFERT (112) demonstriert, daß eine Blutvolumenbestimmung mittels radioaktiver Markierung von Albumin im Schock und bei Hypovolämie mit erheblichen Fehlern belastet ist und zu

große Blutvolumina angibt (112).

Die von HERRMANN und LÖBELENZ nach der Formel

$$\text{Plasmavolumen (ml)} \times \frac{\text{Plasma-Hämoglobinkonzentration}}{100} \text{ (g/ml) berechnete Menge}$$

des intravasalen freien Hämoglobins und die HWZ von 144 Minuten ist daher zu hoch angegeben.

Exakte Untersuchungen zur intravasalen Verweildauer von nicht korpuskulärem Hämoglobin wurden 1973 von SUNDER-PLASSMANN et al. vorgelegt (159,160). Nach hypervolämischem Austausch von 10 ml/kg Blut gegen 20 ml/kg 6%-ige SFH-Lösung von BONHARD stellten sie bei Hunden mit ^{125}J-Hämoglobin und ^{51}Chrom markierten autologen Erythrozyten eine HWZ von 95 Minuten fest. Bei einem isovolämischen Austausch von 20 ml/kg wurde eine HWZ von 110 Minuten gemessen (164), während sie bei einer nach KAPLAN (88) hergestellten 5,3%-igen SFH-Lösung mit 140 Minuten signifikant höher lag (83,84). Bei der Herstellung dieser Lösung war der Azidifizierungsschritt weggelassen worden (88).

Auch für eine von BONHARD nach BENESCH et al. (12) hergestellte 5%-ige SFH-PLP-Lösung fanden JESCH et al. eine HWZ von nur 100 Minuten (83,84). GREENBURG bestimmte sowohl für eine konventionelle als auch für eine SFH-PLP-Lösung nach BENESCH et al. (12) bei Kaninchen und Hunden den Zeitpunkt, bei dem die Konzentration des freien Hämoglobins auf die Hälfte vermindert war (62). Die "HWZ" der konventionellen SFH-Lösung betrug bei den Kaninchen 98 Minuten, bei Hunden ca. 90 Minuten, während sie bei SFH-PLP bei den Kaninchen mit 140 Minuten und bei den Hunden mit 133 - 138 Minuten um ca. 50 Prozent verlängert war.

Tabelle 15 Übersicht über die in der Literatur vorhandenen Angaben zur intravasalen Verweildauer (HWZ) von konventioneller SFH- und SFH-PLP-Lösung.

Autoren	Hämoglobinlösung	Spezies	Hämoglobinmenge	Versuchsmodell	Halbwertszeit (HWZ)	Methode der HWZ-Bestimmung
RABINER et al. (144)	7 g% SFH	Hunde	1,4 - 3,3 g/kg	isovolämischer Austausch 20 - 47 ml/kg	4 - 5 Stunden	Bestimmung der "HWZ" nur an Hand des Konzentrationsverlaufs des freien Hämoglobins. Keine Berücksichtigung des Blutvolumens!
HERRMANN u. LÖBELENZ (74) SIMMENDINGER et al. (180)	6 g% SFH	Hunde	2,4 g/kg	Hypovolämische Reanimation nach 100 Minuten hämorrhagischer Hypotension	144 Min.	Messung der Plasma-Hämoglobin-Konzentration mit Berücksichtigung von Blutvolumenänderungen. Bestimmung des Plasmavolumens mit ^{131}J markiertem Albumin.
BIRNDORF u. LOPAS (17)	6,9 - 7,3 g% SFH	Affen		Isovolämischer Austausch von 1/4 des gemessenen Blutvolumens	120 Min.	Messung der Plasma-Hämoglobinkonzentration. Keine Berücksichtigung von Blutvolumenveränderungen.
UNSELD (188)	6,3 g% SFH	Miniaturschweine	1,4 - 2,0 g/kg	Infusion von 650 ml bei wachen normovolämischen Tieren	2,5 Stunden	Nur Messung des Plasma-Hämoglobinabfalls. Keine Berücksichtigung von Blutvolumenveränderungen.
	6,3 g% SFH	Miniaturschweine		3-stündige hämorrhagische Hypotension von 40 mmHg. Isovolämische Reanimation mit 27 ml/kg.	3,5 Stunden	s. o.
SZTUKA et al. (185)	5,5 g% SFH	Hunde	1,1 g/kg	Infusion von 20 ml/kg bei normovolämischen Tieren	150 Min.	Nur Bestimmung der Plasma-Hämoglobinkonzentration. Keine Berücksichtigung des Blutvolumens.
FÖRSTER et al. (57) SCHNEIDER et al. (171)	6 g% SFH	Ratten	3 g/kg	3-stündige Infusion von 18 ml bei normovolämischen Tieren. Anschließend Messungen der Plasma-Hämoglobinkonzentrationen	2 Stunden	Nur Messung des Plasma-Hämoglobinabfalls. Keine Berücksichtigung von Blutvolumenänderungen.
GREENBURG et al. (61)	5 - 7 g% SFH	Kaninchen	1,2 g/kg	Arterielle Infusion von 20 ml bei normovolämischen Tieren. Anschließend Bestimmung der Plasma-	98,3 $\pm$ 10	An Hand einer Regressionsgleichung Bestimmung des Zeitpunktes, zu dem die Plasma-Hämoglobinkonzentration auf 50 Prozent re-

				Hämoglobinkonzentration alle 15 Minuten		reduziert war. Keine Berücksichtigung des Blutvolumens!
	15 g% SFH	Hunde	0,6 g/kg	Arterielle Infusion von 30 ml bei normovolämischen Tieren.	89,9 Min.	s. o.
KALESNIKOV et al. (87)	3 g% SFH	Menschen	30 g/ Patient	Infusion von 14 ml/kg in 1 - 1,5 Stunden	3,0 - 3,5 Stunden	Keine Angaben über die Methode der "HWZ"-Bestimmung.
LOISANCE et al. (101)	7,3 g% SFH	Kaninchen		Austauschtransfusion bis zu einem Hämatokrit von 28 Prozent	70 - 80 Min.	Keine Angaben über die Methode der "HWZ"-Bestimmung.
SUNDER-PLASSMANN et al. (159,160)	6 g% SFH	Hunde	1,2 g/kg	Hypervolämischer Austausch von 10 ml/kg Blut gegen 20 ml/kg SFH-Lösung	110 Min.	Messung des Konzentrationsverlaufs des freien Hämoglobins mit ^{125}J-Hämoglobin. Korrelation mit dem Verlauf des Blutvolumens, das mit ^{51}Cr markierten, autologen Erythrozyten gemessen wurde.
SUNDER-PLASSMANN et al. (164)	6 g% SFH	Hunde		Isovolämischer Austausch von 20 ml/kg	95 Min.	s. o.
JESCH et al. (83, 84)	5,3 g% nach KAPLAN (88)	Hunde	1,0 g/kg	Isovolämischer Austausch von 20 ml/kg	140,2 $\pm$ 6,7 Min.	s. o.
JESCH et al. (83, 84)	4,9 g% SFH-PLP	Hunde	1,1 g/kg	Isovolämischer Austauch von 20 ml/kg	100,3 $\pm$ 6,3 Min.	s. o.
GREENBURG et al. (61)	5 - 7 g% SFH-PLP	Kaninchen	1,2 g/kg	Arterielle Infusion von 20 ml bei normovolämischen Tieren. Anschließend Bestimmung der Plasma-Hämoglobinkonzentration alle 15 Minuten	140,3 - 15	An Hand einer Regressionsgleichung wurde der Zeitpunkt bestimmt, zu dem die Plasma-Hämoglobinkonzentration auf 50 Prozent reduziert war. Keine Berücksichtigung des Blutvolumens!
	15 g% SFH-PLP	Hunde	0,6 g/kg	Arterielle Infusion von 30 ml bei normovolämischen Tieren. Anschließende Messung der Plasma-Hämoglobinkonzentration alle 30 Minuten	138,4 Min.	s. o.

Alle Autoren verwendeten aus Human-Erythrozyten hergestellte Hämoglobinlösungen!

3. 2. 1. Ursache der kurzen HWZ von SFH- und SFH-PLP-Lösungen

Als Ursache für die kurze HWZ von Hämoglobinlösungen ist die reversible Dissoziation des Hämoglobintetramers ($\alpha_2\beta_2$) in 2 symmetrische Dimere ($\alpha\beta$) mit einem Molekulargewicht von 32000 anzusehen (27,30).
So wurde für eine 0,1%-ige Hämoglobinlösung im oxygenierten Zustand unter physiologischen Ionenverhältnissen nachgewiesen, daß 1/4 aller Moleküle in der dimeren Form vorliegen (65). Ungefähr den selben Anteil stellte IMAI fest, der ca. 20 Prozent des Hämoglobins in dissoziierter Form nachwies (Hb=0,38 g%, pH=7,4, Temp.=25°C)(76). Im Gegensatz zu Oxy-hämoglobin dissoziiert Desoxy-hämoglobin nicht in $\alpha\beta$-Untereinheiten (13,76).
Ausgehend von dieser Tatsache versucht GREENBURG die längere "HWZ" seiner SFH-PLP-Lösung zu begründen (61). So soll wegen der höheren O_2-Abgabebereitschaft des SFH-PLP im Kreislauf ein insgesamt größerer Anteil des infundierten Hämoglobins im desoxygenierten, also im nicht dissoziierten Zustand zirkulieren.
Ob diese Interpretation für die längere "HWZ" seiner SFH-PLP-Lösung schlüssig ist, muß erst noch bewiesen werden.

3. 2. 2. Elimination des freien Hämoglobins aus dem Intravasalraum

Die Folge der reversiblen Dissoziation in Untereinheiten niedrigen Molekulargewichts ist ein rascher transkapillärer und transglomerulärer Abstrom. Extraerythrozytäres Hämoglobin wurde unmittelbar nach der Infusion sowohl in der Lymphe des ductus thoracicus als auch im Urin nachgewiesen (63,73, 127,164).

HAYNES infundierte Hämoglobinlösung in die V. femoralis bzw. V. jugularis und wies nach 32 Minuten Hämoglobin in der Beinlymphe, nach 44 Minuten in der Cervicallymphe nach. Nach 30 bis 45 Minuten stellte er Hämoglobin in der Subcutanlymphe fest (73).

SUNDER-PLASSMANN et al. konnten zeigen, daß sogar nur 5 bis 10 Minuten nach dem isovolämischen Austausch von 20 ml/kg Blut gegen SFH-Lösung Hämoglobin in der Ductus thoracicus-Lymphe auftrat. 60 Minuten nach der Infusion waren Plasma- und Lymphhämoglobinkonzentration nahezu identisch (50,63,164).

Als Hinweis auf den raschen transglomerulären Abstrom bemerkte eine Vielzahl von Autoren das Auftreten von Hämoglobin im Urin innerhalb weniger Minuten nach der Infusion von SFH-Lösung (18,67,87,101,167). Allerdings

liegen über den durch die Nieren ausgeschiedenen Anteil an der infundierten Hämoglobingesamtmenge in der Literatur die unterschiedlichsten Angaben vor. Sie reichen von 1,5 bis 60 Prozent und können wegen der unterschiedlichen Tierspezies, Versuchsmodelle und Hydratationsverhältnisse schlecht miteinander verglichen werden (17,18,57,63,74,97,98,133,144,147,148,149,153,164,180, 185,188).
Die Mehrzahl der Autoren gibt Prozentzahlen zwischen 10 und 35 an (17,57,63,74,97,144,153,164,180,185).

Nur RELIHAN und LITWIN berichteten über eine quantitative Ausscheidung von 60 Prozent des Hämoglobins innerhalb von 6 Stunden (147).

Insgesamt scheint die Niere aber für die schnelle Elimination des Hämoglobins aus dem Intravasalraum keine dominierende Rolle zu spielen.
So registrierten RABINER et al. nach der Ureterenligatur bei 2 Hunden die gleiche, rasche initiale Eliminationsphase (ca. 60 Minuten), wie sie bei den Tieren mit normaler Urinausscheidung vorlag. Nur die 2. langsamere Eliminationsphase war etwas mehr verzögert (144).

BIRNDORF und LOPAS beschrieben nach beidseitiger Ureterligatur bei Affen eine gleich große Plasmaabflußrate des Hämoglobins wie bei den Tieren mit hoher Hämoglobinausscheidung im Urin (17).

Neben dem transkapillären Abstrom ins Interstitium scheint die Aufnahme des freien Hämoglobins durch das Reticulo-Endotheliale System (RES) den entscheidenden Faktor für die rasche Elimination aus dem Intravasalraum darzustellen.

So fanden RABINER et al. 4 bis 5 Stunden nach isovolämischem Austausch von 20 bis 47 ml/kg bei ihren Versuchstieren 23,4 Prozent der Gesamthämoglobinmenge in der Leber und 4,5 Prozent in der Milz (144).
PESKIN berichtet über Anteile von 40 Prozent in der Leber und 20 bis 25 Prozent in der Milz, nachdem Plasmahämoglobinkonzentrationen von 1,5 bis 3,5 g% erreicht worden waren (140).

Aufnahme durch das RES, Ausscheidung über die Nieren und Abstrom ins Interstitium haben zur Folge, daß im Intravasalraum einige Stunden nach der Infusion von SFH-Lösungen nur noch Bruchteile der initialen Hämoglobinmenge vorhanden sind.

HERRMANN und LÖBELENZ berechneten 4 Stunden nach der Reanimation mit SFH-Lösung den Anteil des aus dem Intravasalraum eliminierten Hämoglobins

mit 75,9 Prozent. Der für den Intravasalraum angegebene Anteil von 24,1 Prozent ist mit Sicherheit zu hoch veranlagt. Die methodischen Gründe hierfür wurden bereits auf Seite 57 erklärt (74).

Auf Grund exakter HWZ-Messungen konnten SUNDER-PLASSMANN et al. zeigen, daß sich nach 4 Stunden nur noch 10 Prozent der infundierten Hämoglobinmenge im Intravasalraum befanden (63,164).

3.3. Kolloidosmotischer Druck

Anhand des Hämodilutionsmodells mit Dextran 60 weisen MESSMER et al. nach, daß die Effizienz einer kolloidalen Verdünnungslösung Blutvolumen und venösen Rückstrom aufrecht zu halten, direkt mit ihren kolloidosmotischen Eigenschaften korreliert (113,115).
Bei isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 (HWZ = 6 Stunden) wird der KOD des Plasmas signifikant erhöht. Da der intra-extravaskuläre kolloidosmotische Druckgradient konstant bleibt, gelingt es, das Blutvolumen konstant zu halten, ohne eine Flüssigkeitsüberladung des Organismus in Kauf nehmen zu müssen (113,115).
Von den herkömmlichen, kolloidalen Blutersatzlösungen ist SFH-Lösung am ehesten mit Gelatinelösungen zu vergleichen. Letztere haben ein mittleres Molekulargewicht von 20 - 35000 (63,151,156) und weisen eine intravasale HWZ von 2 bis 3 Stunden auf (151).
Im Gegensatz zur Hämodilution mit Dextran 60 erhöhen sie <u>in vivo</u> nicht den KOD des Plasmas, sondern halten ihn nur konstant. Durch den raschen transkapillären Abstrom ins Interstitium erfolgt eine Abnahme des intra-extravaskulären kolloidosmotischen Druckgradienten. Daraus resultiert - bei normalen Plasma-KOD-Werten - nicht nur eine erhebliche Verringerung des zirkulierenden Blutvolumens, sondern gleichzeitig eine Vergrößerung des extravasalen Flüssigkeitsraumes (113).
Da bei SFH-Lösungen mit einer HWZ von 95 bis 140 Minuten der transkapilläre Abstrom noch ausgeprägter ist (Hämoglobinkonzentration im ductus thoracicus nach 1 Stunde nahe der Plasmakonzentration!), sind ihre kolloidosmotischen Eigenschaften noch schlechter als die von Gelatinelösungen einzustufen (87,88,140).
Dies beweisen auch Blutvolumenmessungen, die - im Vergleich zu Gelatinelösungen - eine wesentlich geringere Volumenwirksamkeit von SFH- und SFH-PLP-Lösungen ergaben (63,74,83,84,151,157,158,160,164).

3. 4. Ausmaß der Hypovolämie nach Hämodilution mit SFH- und SFH-PLP-Lösungen

Blutvolumenbestimmungen bei Hunden mittels autologer ^{51}Cr-markierter Erythrozyten bei extremer isovolämischer Hämodilution (Hkt = 7 %) mit 6%-iger SFH-Lösung ergaben am Ende der Austauschperiode einen Abfall des Blutvolumens auf 60 Prozent (63,160), nach weiteren 2 Stunden Beobachtung eine Reduzierung auf 50 Prozent (63,157,158,160).

Auch HERRMANN und LÖBELENZ registrierten nach der Reanimation mit SFH-Lösung einen massiven Abfall des mit R ^{125}ISA gemessenen Blutvolumens (74).
Bei Ratten lag bereits 25 Minuten nach extremer isovolämischer Hämodilution (Hkt = 10 %) mit konventioneller SFH-Lösung und SFH-PLP-Lösung (beide von BONHARD) das Blutvolumen in beiden Versuchsgruppen bei 73 bis 75 Prozent des Kontrollwertes (164).

JESCH et al. führten mit konventioneller SFH-Lösung nach KAPLAN (88) einerseits (HWZ = 140 Minuten) und SFH-PLP-Lösung von BONHARD (HWZ = 100 Minuten) andererseits einen isovolämischen Austausch von nur 30 bzw. 33 Prozent des gemessenen Blutvolumens bei Hunden durch. Trotz des geringen Austauschvolumina betrug bereits 10 Minuten nach Austauschende das zirkulierende Blutvolumen in beiden Gruppen nur noch 90 Prozent, nach 4 Stunden lag es bei 77 Prozent der Kontrollwerte (83,84).

Auf Grund dieser Ergebnisse lassen sich folgende Aussagen machen:

1. Trotz ihrer signifikant höheren HWZ von 140 Minuten erweist sich die SFH-Lösung nach KAPLAN (95) also genauso wenig volumenwirksam wie Lösungen mit einer HWZ von 95 - 110 Minuten.
2. In der Volumenwirksamkeit besteht zwischen konventioneller und SFH-PLP-Lösung nach BONHARD kein Unterschied.
3. Ob die von GREENBURG bei SFH-PLP (PLP kovalent gebunden) beobachtet verlangsamte Elimination aus dem Intravasalraum auch einen verbesserten Volumeneffekt bedeutet, kann erst durch exakte Volumenmessungen beurteilt werden.

3. 5. Korrelation zwischen Hypovolämie und Überlebensrate nach extremer und limitierter Hämodilution mit SFH-Lösungen

Bei isovolämischem Blutersatz durch Dextran 60 war von MESSMER et al. demonstriert worden, daß eine Verringerung des Hämatokrit auf 7 Prozent langfristig überlebt wird (110,113). Bis zu diesem Wert wird die verdünnungsbedingte Abnahme des Blutsauerstoffgehalts durch einen überproportionalen Anstieg des Herzzeitvolumens kompensiert. Wird der Hämatokrit von 7 Prozent unterschritten, so versterben die normovolämischen Versuchstiere an der nicht mehr kompensierbaren Verminderung der Blutsauerstoffkapazität.

Wird der Blutersatz jedoch isovolämisch mit Gelatinelösung durchgeführt, so überleben die Versuchstiere nur dann langfristig, wenn ein Hämatokrit von 20 Prozent nicht unterschritten wird (156). Die Todesursache ist - im Gegensatz zur Hämodilution mit Dextran 60 - in der progressiven Hypovolämie zu sehen, die zu einem Abfall des Herzzeitvolumens führt. Damit fehlt aber der entscheidende Kompensationsmechanismus zur dilutionsbedingten Verringerung des Blutsauerstoffgehalts.

Ausgehend von diesen Ergebnissen sind zwei Fragen zu beantworten:

1. Wie weit kann bei der - im Vergleich zu Gelatine - noch geringeren Volumenwirksamkeit von SFH- bzw. SFH-PLP-Lösungen der Hämatokrit gefahrlos gesenkt werden?
2. Kann bei Hämodilution mit Hämoglobinlösungen der Hämatokrit wegen des geringen Abfalls der O_2-Kapazität stärker gesenkt werden, als mit erythrozytenfreien Kolloiden?

Wiederholt wird berichtet, daß bei Blutersatz mit Hämoglobinlösungen sogar eine Verminderung des Hämatokrits auf Werte von 5 bis 0 Prozent überlebt wird (19,88,131,138,140,145,146).
MOSS (131) und PALANI (137,138) senkten bei 9 Affen den Hämatokrit durch Austausch gegen 6 - 9%-ige SFH-Lösung auf 0, töteten aber die Tiere nach einer 3-stündigen Beobachtungsperiode.
In dieser Zeit wurde das Auftreten einer schweren Hypovolämie dadurch verhindert, daß die Versuchstiere soviel SFH-Lösung erhielten, daß der arterielle Druck konstant gehalten werden konnte.
BRAASCH senkte bei 9 Hunden mit 10%-iger SFH-Lösung den Hämatokrit bis unter 1 Prozent (19). Dabei ersetzte er bei den einzelnen Austauschschritten nur das Erythrozytenvolumen durch Hämoglobinlösung, während das entzogene

Plasma wieder zurückinfundiert wurde. Auf diese Weise wurden dem Kreislauf die gut und lang volumenwirksamen Plasmaproteine (64) erhalten, während diese bei der extremen Hämodilution der anderen Autoren (63,131,137,138, 157,158,159) weitestgehend gegen die schlecht volumenwirksame SFH-Lösung ausgetauscht wurde. In der folgenden 24-Stundenperiode wirkte BRAASCH der durch den Abstrom des freien Hämoglobins bedingten Verminderung der O_2-Kapazität entgegen, indem er durch weitere Zufuhr von SFH-Lösung die Plasmahämoglobinkonzentration nicht unter 3 g% sinken ließ. Als er die Tiere nach 24 Stunden tötete, waren Blutdruck, Herzfrequenz und Atmung normal, die Serum-Laktatkonzentration war nicht erhöht.

RABINER (145,146) und PESKIN (140) verminderten den Hämatokrit auf 3 - 4 Prozent. Alle 5 Tiere überlebten akut die 2-stündige Austauschperiode, sowie eine 3-stündige Beobachtungsperiode, in der allerdings die sicher zu erwartende Hypovolämie durch die Infusion von 25 ml/kg Kochsalzlösung in ihrem Ausmaß zumindest etwas limitiert wurde. Obwohl bei Versuchsende durch die Zufuhr von 20 ml/kg Vollblut Hämatokrit und Blutvolumen erheblich angehoben wurden, starben 2 Versuchstiere in den folgenden Tagen.

KAPLAN und MURTHY reduzierten den Hämatokrit auf Werte unter 5 Prozent. Bereits 30 Minuten nach Austauschende infundierten sie jedoch 10 ml/kg Vollblut und erhöhten damit den Hämatokrit auf 9 Prozent. Trotzdem verstarben in den ersten 2 Tagen 5 der 6 Versuchstiere (88).

SUNDER-PLASSMANN (157,158,159) und GROHMANN (63) berichteten über eine schrittweise Dilution mit 6%-iger SFH-Lösung bis zu einem Hämatokrit von 7 Prozent. 2 Stunden nach Erreichen des Hämatokrittiefstwertes verstarben alle Versuchstiere. Bei limitierter Hämodilution (Hkt = 20 Prozent) überlebten jedoch 3 von 4 Tieren langfristig.

Eine 2-stündige hämorrhagische Hypotension mit anschließender Reanimation durch SFH-Lösung überlebten bei UNSELD nur 2 von 8 Hunden langfristig. Bei Versuchsende lag der durchschnittliche Hämatokritwert bei 17 Prozent. Die bei der Hämorrhagie den geringsten Blutverlust aufweisenden Tiere überlebten (188).

In einem vergleichbaren Versuchsmodell überlebten bei SIMMENDINGER et al. alle 8 Hunde langfristig. Der Hämatokrit hatte bei Versuchsende ca. 23 Prozent betragen (180).

Den aufgeführten Arbeiten ist zu entnehmen, daß - bedingt durch die

progrediente Hypovolämie - isovolämischer Blutersatz durch SFH-Lösungen bei Hämatokritwerten unter 7 Prozent in kürzester Zeit (2 Stunden) zum Tod der Versuchstiere führt (63,157,158,159). Die Überlebenszeit kann nur dann verlängert werden, wenn der progredienten Hypovolämie durch weitere Volumenzufuhr entgegengewirkt wird (19,88,131,137,138,140,145,146), sei es durch Vollblut (88,140,145,146) oder SFH-Lösung (19,131,137,138).

Die Versuche von BRAASCH (19), MOSS (131) und PALANI (137,138) belegen, daß extraerythrozytäres Hämoglobin prinzipiell in der Lage ist, eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Versuchstiere zu gewährleisten. Gelingt es den Faktor Hypovolämie weitestgehend auszuschalten, so ist bei der Hämodilution mit SFH-Lösung kurzfristig auch eine Verringerung des Hämatokrits deutlich unter 7 Prozent möglich.

Langfristig wird eine isovolämische Hämodilution erst dann überlebt, wenn ein Hämatokrit von ca. 20 Prozent nicht unterschritten wird. Dies entspricht den Ergebnissen nach isovolämischer Hämodilution mit Gelatinelösungen (156).

4. O_2-Affinität

Die Affinität von Hämoglobin für Sauerstoff ist definiert durch die Lage der O_2-Bindungskurve bzw. den p_{50}-Wert. Er stellt den Sauerstoffpartialdruck dar, bei dem 50 Prozent des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt sind und wird im allgemeinen bei einem pH von 7,4 und 37°C bestimmt. Als Normwerte werden für Blut von gesunden Menschen 26 bis 29,3 mmHg angegeben (60,71,78,79,163,177). Veränderungen des p_{50} ergeben sich in Abhängigkeit von aktuellem pH, pCO_2 und der Temperatur. Von Bedeutung sind außerdem das Auftreten von CO- und Methämoglobin. Neben diesen Faktoren wurde in den letzten Jahren die Abhängigkeit der Lage der O_2-Bindungskurve und damit der O_2-Affinität von der intraerythrozytären ATP- (7,9,31) und 2,3-Diphosphoglycerat-Konzentration (7,9,10,11,31,43) beschrieben. Der Effekt des 2,3-DPG ist quantitativ wichtiger, da die 2,3-DPG-Konzentration mehr als 4-fach über der von ATP liegt (31). Sowohl in vitro (7,9, 10,12,31,38,43,44,45) als auch in vivo (78,79,150,178) konnte gezeigt werden, daß niedrige intraerythrozytäre 2,3-DPG-Konzentrationen niedrige p_{50}-Werte zur Folge haben, während hohe DPG-Konzentrationen mit einem Anstieg des p_{50}-Wertes einhergehen.

2,3-DPG determiniert die O_2-Affinität in intakten Erythrozyten sowohl direkt durch eine allosterische Interaktion mit dem Hämoglobinmolekül selbst, als auch indirekt durch die 2,3-DPG-induzierte Abnahme des intraerythrozytären pH und des CO_2-induzierten Bohreffektes des Hämoglobins (42). Bei den als Normwert angegebenen intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentrationen von 11,8 bis 17,8 µMol/gHb (38,43,44,78,79,131,159,161,178,185) steht der direkte Effekt ganz im Vordergrund. Erst bei über 12 bis 18 µMol/gHb liegenden 2,3-DPG-Konzentrationen werden intraerythrozytärer pH und Bohreffekt in zunehmendem Maße für die weitere Zunahme des p_{50} verantwortlich (42,43). Im Gegensatz zur direkten Interaktion mit dem Hämoglobinmolekül, sind die indirekten Mechanismen an das Vorliegen einer intakten Erythrozytenmembran gebunden. Sie entstehen durch eine Verschiebung des Donnangleichgewichts, ausgelöst durch die Akkumulation nicht die Erythrozytenmembran penetrierender Anionen (38,43,45).

Klinische Bedeutung kommt dem 2,3-DPG-Mechanismus besonders bei der Bluttransfusion zu, da konventionelle Blutkonserven bereits nach 2 bis 3 Tagen eine deutliche Reduzierung der 2,3-DPG-Konzentrationen aufweisen. Bei Massivtransfusionen von Konservenblut ist daher mit einer Verschlechterung der O_2-Versorgung auf Grund einer Erhöhung der O_2-Affinität zu rechnen (106,178).

So wiesen SHELDON et al. bei Patienten nach der Transfusion von je 8 Einheiten ACD-Blut einen Abfall sowohl der 2,3-DPG-Konzentration von 11,9 auf 9,0 µMol/gHb als auch des p_{50} von 26,1 auf 20,8 mmHg nach. Als Hinweis auf eine verschlechterte O_2-Versorgung der Gewebe fand er eine Laktatazidose, sowie einen Abfall des subcutanen Gewebe-pO_2 auf 40 - 60 Prozent des Normalwertes (178).

Nachdem in vitro bei SFH-Lösungen sogar p_{50}-Werte von nur 8,2 bis 20,3 mmHg beschrieben wurden (22,23,39,50,61,62,74,83,84,88,100,101,126,127,131,138, 158,164), stellt sich die Frage, ob Hämoglobin mit einer derart hohen O_2-Affinität den gebundenen Sauerstoff in ausreichenden Mengen an die Gewebe abgeben kann. Bevor auf die Beantwortung dieser entscheidenden Frage eingegangen wird, sollen die Ursachen für den extremen Anstieg der O_2-Affinität von SFH-Lösungen besprochen werden.

4.1. Ursachen für die hohe O_2-Affinität von konventionellen SFH-Lösungen

Als Hauptfaktoren werden in der Literatur der massive Abfall der 2,3-DPG-Konzentration, methodische Gründe bei der Messung des p_{50}, die Methämoglobinbildung und die niedrige Hämoglobinkonzentration diskutiert.

4.1.1.

Dabei wird von nahezu allen Autoren die erhebliche Verminderung der 2,3-DPG-Konzentration zum quantitativ entscheidenden Faktor für die hohe O_2-Affinität erklärt. Analysen der 2,3-DPG-Konzentration in SFH-Lösungen ergaben Werte zwischen 0 und 16,4 µMol/gHb (50,60,61,83,84,100,185).

Für die 2,3-DPG-Verarmung sind 3 Ursachen aufzuführen:

4.1.1.1. SFH-Lösungen werden aus verfallenen Blutkonserven mit überalterten Erythrozyten, die einen bereits sehr niedrigen 2,3-DPG-Gehalt aufweisen, hergestellt.

4.1.1.2. Die Entfernung der Erythrozytenmembran. Damit entfallen die indirekt die O_2-Affinität senkenden Mechanismen des 2,3-DPG, während die allosterische Reaktion mit dem Hämoglobinmolekül erhalten bleibt. In vitro-Versuche von DUHM zeigen, daß dadurch p_{50}-Werte von maximal 30 mmHg (pH = 7,4 , pCO_2 = 40 mmHg) erreicht werden können, während bei intakten Erythrozyten, nach Inkubation in Pyruvat, Inosin und Phosphat enthaltenen Medien, durch Erhöhung der DPG-Konzentration auf 75 µMol/gHb, p_{50}-Werte von 45 mmHg

erzielt werden können (42,45).

4.1.1.3. Das niedermolekulare 2,3-DPG-Molekül geht bei den verschiedenen Herstellungsschritten verloren und wird praktisch quantitativ bei dem von vielen Autoren zur Kaliumentfernung eingeschalteten Dialyseschritt aus der SFH-Lösung entfernt (19,21,24,25,39,47,61, 62,140,144,185).

4.1.2.

Ein weiterer Grund für die hohe O_2-Affinität von SFH-Lösungen ist die Messung des p_{50} bei einem pH von 7,4. Der p_{50} von Vollblut wird zwar auch bei einem Plasma-pH von 7,4 bestimmt, der intraerythrozytäre pH beträgt jedoch 7,2 bis 7,25 (100,164). Dadurch wird Plasmahämoglobin bei pH 7,4 mit intraerythrozytärem Hämoglobin bei pH 7,2 verglichen. Aus von DUHM durchgeführten in vitro Untersuchungen über den Einfluß von 2,3-DPG auf den Bohr-Effekt von Humanhämoglobin ist zu ersehen, daß eine Erniedrigung des pH von 7,4 auf 7,2 (pCO_2 = 40 mmHg, 37°C, DPG = 12 µMol/gHb) den p_{50} von 21,4 auf 26,8 mmHg erhöht (44). Der p_{50} von SFH-Lösungen ist demnach 5 mmHg niedriger als der von Vollblut.

4.1.3.

Gesichert ist ferner die Erniedrigung des p_{50} durch das Auftreten von Methämoglobin in Hämoglobinlösungen, wie DARLING bereits 1942 demonstrieren konnte (36). Für die Methämoglobinkonzentration in SFH-Lösungen werden in der Literatur 0,4 bis 15 Relativprozent angegeben (20,29,50,63,88,97,101, 105,130,131,134,144,149,153,168,185,190).

Als auf die Methämoglobinbildung in vitro begünstigend wirkend, werden folgende Faktoren angegeben: Anstieg der 2,3-DPG-Konzentration (108), niedriger pH (108), Lagerung der Lösungen bei Temperaturen über 4 bis 5°C (97,98),zunehmende Lagerungsdauer (168) und Lyophilisation (97,98).

Da bei der Herstellung von SFH-Lösungen eher niedrige DPG-Konzentrationen vorliegen, dürfte die Methämoglobinbildung in SFH-Lösungen eher verzögert ablaufen.

Der pH von SFH-Lösungen wird mit Werten zwischen 6,89 und 7,5 angegeben (20,29,39,48,60,75,83,84,88,101,131,147,148,149,167,168,169,185). Über

pH-Veränderungen nach längerer Lagerung wird in der Literatur nicht berichtet. MANSOURI et al. demonstrierten, daß Hämoglobin ohne DPG in vitro bei pH = 6,8 eine Autooxidationsrate von 50 % nach ca. 10 Stunden, bei pH = 7,5 nach erst 40 Stunden erreicht (108). Diese Autooxidationsrate kann jedoch nicht auf bei 4° - 5°C lagernde SFH-Lösungen bezogen werden, da MANSOURI seine Untersuchungen bei 37°C durchgeführt hat. Damit ist auch bei niedrigen pH-Werten von SFH-Lösungen langfristig keine nennenswerte Methämoglobinbildung zu befürchten.

Daß bei steigenden Lagertemperaturen von SFH-Lösungen tatsächlich ein erheblicher Anstieg der Methämoglobinbildung zu verzeichnen ist, demonstrierte LABRUDE (97,98). Nach 20 Tagen Lagerung bei -20°C betrug der Methämoglobinanteil nur 4 Prozent, während er bei $+4^{\circ}$C bereits auf 13 Prozent und bei $+20^{\circ}$C sogar auf 26 Prozent angestiegen war. Nach 90 Tagen Lagerung bei $+20^{\circ}$C waren 76 Prozent des Hämoglobins autooxidiert.
Werden SFH-Lösungen bei 4°- 5°C aufbewahrt, so ist die Methämoglobinbildung weitestgehend vernachlässigbar (20,39,97,130,144).

Widersprüchlich sind die Angaben über die Relevanz der Lagerungsdauer und der Lyophilisation für Methämoglobinbildung. Nach Lagerungszeiten von 1 bis 8 Monaten fanden die meisten Autoren - bei 4°- 5°C - keinen Anstieg der Methämoglobinkonzentration (20,130,144). SCHIER dagegen beschrieb nach 4-monatiger Lagerung einen Anstieg bis zu 30 Prozent, ohne allerdings die Lagerungstemperatur angegeben zu haben (168).

Die ohne Zweifel praktischste Aufbewahrungsform von SFH stellt die Lyophilisation dar, die schon in den 40-er Jahren von AMBERSON (3) und HAMILTON (67) eingeführt wurde. VELIKINA gibt an, nach 1-jähriger Lagerung von Hämoglobinlösung in lyophilisierter Form keine Veränderung der O_2-Transporteigenschaften gefunden zu haben (191).
GREENBURG hat in seiner lyophilisierten, bis zu 4 Monaten gelagerten SFH-Lösung zwar nicht die Methämoglobinbildung gemessen, fand aber unveränderte 2,3-DPG-Titer und p_{50}-Werte (62).
Völlig im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von LABRUDE, der nach Lyophilisation seiner Lösung nach 20 Tagen 65 Prozent Methämoglobin und nach 90 Tagen sogar 90 Prozent in autooxidierter Form nachwies (97,98).

Zusammenfassend kann zur Methämoglobinbildung in SFH-Lösungen festgestellt werden, daß während Aufbewahrung bei 4^{o} - 5^{o}C auch über Monate keine nennenswerte Methämoglobinbildung erfolgt. Durch die in der Literatur angegebenen Methämoglobinkonzentrationen dürften O_2-Kapazität und O_2-Affinität nicht wesentlich beeinflußt werden.

4.1.4.

Von einigen Autoren wird auch eine Beziehung zwischen Hämoglobinkonzentration und p_{50} postuliert (6,164).
BELLINGHAM et al. stellten in vivo Veränderungen der mittleren erythrozytären Hämoglobinkonzentration (MCHC) als Sofortreaktion auf Alkalose und Azidose fest und leiteten daraus eine signifikante Korrelation zwischen p_{50} und Hämoglobinkonzentration ab (Abnahme des p_{50} um 1 mmHg bei Verringerung der MCHC um 2 g%) (6). BENESCH et al. dagegen beschrieben bei Hämoglobinlösungen in einem Konzentrationsbereich von 0,05 bis 1,2 g% eine unveränderte Lage der O_2-Bindungskurve (10). Bei dialysierten Hämolysaten mit Konzentrationen von 3 bis 34 g% konnten MURPHY et al. ebenfalls keinen Einfluß der Hämoglobinkonzentration auf die O_2-Affinität finden (132). Auch SINET et al. zeigten anhand von Versuchen mit DPG-freien Hämolysaten, daß die Hämoglobinkonzentration per se keinen spezifischen Effekt auf die O_2-Bindungskurve ausübt (184).
Berücksichtigt man die eindeutigen Aussagen der drei letztgenannten Arbeiten (10,132,184), so erscheint die von SUNDER-PLASSMANN et al. (164) vorgetragene These der O_2-Affinitätszunahme bei sinkender Konzentration der SFH-Lösung fragwürdig. Leider haben die Autoren weder eigene Ergebnisse noch Referenzen, auf die sich ihre Aussage stützen könnte, aufgeführt.

4.2. Der Bohrkoeffizient von SFH-Lösungen

SFH-Lösungen weisen aber in vitro nicht nur eine bereits erhebliche Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve auf, sondern zusätzlich eine signifikante Verringerung des BOHR-Koeffizienten $\Delta p_{50}/\Delta pH$. LOISANCE, der als Normwert für Vollblut einen Koeffizienten von -0,42 angibt, fand bei seiner SFH-Lösung eine Verringerung auf -0,22 (101).
Somit wird beispielsweise bei gleicher Verringerung des pH die O_2-Bindungskurve des freien Hämoglobins nur ca. halb so weit nach rechts verschoben, wie die von Vollblut. Auf in vivo Verhältnisse übertragen, würde dies möglicherweise eine weitere Erschwerung der O_2-Abgabe an die Gewebe bedeuten.

DUHM demonstrierte einen eindeutigen Zusammenhang von BOHR-Koeffizient und 2,3-DPG-Konzentration (42,44). Hämoglobinlösung ohne 2,3-DPG wies einen BOHR-Koeffizienten von -0,22 auf. Mit 2,3-DPG im molaren Verhältnis 1 Mol DPG / Hb-Tetramer - dies entspricht ungefähr normalen intraerythrozytären Verhältnissen - betrug der Koeffizient ca. -0,42 (42).

4.3. Verringerung der O_2-Affinität von SFH-Lösungen durch Erhöhung der 2,3-DPG-Konzentrationen

Es lag auf der Hand, die nur wenig über Null liegenden 2,3-DPG-Konzentrationen von SFH-Lösungen zu erhöhen und somit die O_2-Affinität zu senken.

Dies wurde versucht durch die Inkubation der überalterten Erythrozyten in Pyruvat, Inosin und Phosphat (PIP) (22,23) oder Pyruvat, Inosin, Glucose, Phosphat und Adenin (PIGPA) (61) enthaltenden Medien einerseits, sowie andererseits durch das Ersetzen des Dialyseschrittes zur Kaliumentfernung (20,21,24,25,29,74,130,131,153,166,190).

BONHARD erreichte in SFH-Lösungen durch diese DPG-Anreicherungsmethoden p_{50}-Werte von 21 mmHg (24) bis zu 24 mmHg (23).
GREENBURG fand nach 2-stündiger Rejuvenation der Erythrozyten mit PIGPA einen Anstieg der 2,3-DPG-Konzentration von 1,2 auf 5,2 µMol/gHb, einhergehend mit einer Erhöhung des p_{50} von 11,9 auf 20,8 mmHg (61).

BONHARD ersetzte 1975 die Rejuvenation mit PIP durch ein neues Verfahren, bei dem Erythrozyten mit ß-Propiolakton behandelt werden, welches 2,3-DPG-hydrolysierende Enzymsystems hemmt (25). Er beschreibt in so hergestellten SFH-Lösungen 2,3-DPG-Konzentrationen um 0,4 mMol pro 0,8 mMol Hb, dies entspricht ca. 7,8 µMol DPG/gHb.

Übereinstimmend fanden die verschiedenen Autoren, daß die angehobenen DPG-Konzentrationen und damit der erhöhte p_{50} von SFH-Lösungen auch bei monatelanger Lagerung - im Gegensatz zu Konservenblut - konstant bleiben (21,22,23,25,62).

Aus Gründen, auf die in Abschnitt 6.3.2. eingegangen wird, war jedoch die in vitro erhaltene Verbesserung der O_2-Abgabecharakteristik von SFH-Lösungen in vivo nicht nachweisbar.

Um eine nennenswerte Verringerung der O_2-Affinität von SFH-Lösungen zu erreichen, mußten deshalb andere Wege beschritten werden.

4.4. Verringerung der O_2-Affinität von SFH-Lösungen durch Pyridoxylierung des Hämoglobins.

Auf Grund von in vitro-Versuchen mit Pyridoxal-Phosphat (PLP), die von CHANUTIN et al. (31) und BENESCH et al. (8,12,13,14) durchgeführt wurden, ergab sich ein neuer Weg, die O_2-Affinität von SFH-Lösungen zu senken, wobei der p_{50}-Wert teilweise sogar deutlich über den Normalwert von Vollblut angehoben werden konnte.

CHANUTIN et al. beschrieben 1967 in einer biochemisch analytischen Arbeit einen beträchtlichen Anstieg des p_{50} einer Hämoglobinlösung nach der Zugabe von Pyridoxal-Phosphat (31).

BENESCH et al. zeigten, daß PLP die O_2-Affinität von Hämoglobin auf molarer Basis sogar noch mehr verringert, als 2,3-DPG (8).
Die Anlagerungsstelle des PLP ist mit der des 2,3-DPG identisch. Die Bindung erfolgt als Schiff'sche Base (Iminbildung) an den N-terminalen Valingruppen der beiden ß-Ketten. Pyridoxyliertes Hämoglobin verliert die Fähigkeit 2,3-DPG zu binden und umgekehrt verhindert 2,3-DPG die Anlagerung von PLP (12,13).
Im Gegensatz zu den organischen Phosphatestern (DPG, ATP), die an Hämoglobin in Form einer lockeren Ionenbindung angelagert sind, hat PLP den Vorteil, daß das initial entstandene Imin (Schiff'sche Base) mit Natriumborohydrid in ein sekundäres Amin übergeführt werden kann. PLP ist damit kovalent und irreversibel an das Hämoglobin gebunden, das somit eine permanent erniedrigte O_2-Affinität aufweist (12).

Unterzogen BENESCH et al. die so gewonnene Verbindung einer Dialyse, so blieb der p_{50} danach weiter hoch. Ließen sie jedoch den Reduktionsschritt mit Natriumborohydrid weg (PLP nicht kovalent gebunden), so wurde der p_{50} nach der Dialyse wieder auf extrem niedrige Werte reduziert (12).

In vivo-Versuche mit pyridoxylierten, stromafreien Hämoglobinlösungen wurden erstmals von SUNDER-PLASSMANN (164) und JESCH (83,84) veröffentlicht. Sie verwendeten eine von BONHARD - in Modifikation der Methode von BENESCH (12) - hergestellte Lösung, bei der aber im Gegensatz zu BENESCH das PLP nicht kovalent als sekundäres Amin an das Hämoglobin gebunden war, da der Reduktionsschritt mit Natriumborohydrid weggelassen worden war (23). Beide Autoren stellen den bei der in vitro-Analyse erhaltenen p_{50} der SFH-PLP-Lösung graphisch bei 25 - 27 mmHg liegend dar (83,84,164).

Bei anderen Versuchen mit von BONHARD hergestellten SFH-PLP-Lösungen lagen die, bei der in vitro-Analyse erhaltenen p_{50}-Werte bei 30 - 34 mmHg (81,96, 124,126,127). Ihre Sauerstoffabgabebereitschaft übertrifft damit theoretisch die der Erythrozyten.

GREENBURG gibt dagegen für seine nach BENESCH (12) hergestellten SFH-PLP-Lösungen mit 18,8 bzw. 24,4 mmHg unter dem Normalwert von erythrozytärem Hämoglobin liegende p_{50}-Werte an (61).
War Pyridoxal-Phosphat nur durch lockere Ionenbindung (der Herstellungsweise von BONHARD vergleichbar) an das freie Hämoglobin angelagert, so lag der p_{50}-Wert bei 24,4 mmHg. Wurde PLP dagegen kovalent nach der von BENESCH et al. angegebenen Methode (12) an das Hämoglobin gebunden, so mußte eine deutliche Verminderung des p_{50} auf 18,8 mmHg hingenommen werden (61).
Die O_2-Affinität der auf letztere Weise hergestellten SFH-PLP-Lösung war aber immer noch wesentlich geringer, als in einer konventionellen SFH-Lösung mit einem p_{50} von 12 mmHg (61).

An Hand unseres Versuchsmodells sollte nun geklärt werden, ob SFH-PLP-Lösung auf Grund ihres hohen p_{50}-Wertes (29,3 - 33,3 mmHg) eine bessere Sauerstoffabgabe an die Gewebe bewirkt, als konventionelle SFH-Lösung hoher O_2-Affinität (p_{50} = 13,2 mmHg).

5. Hämodynamik

5.1. Verhalten des arteriellen Druckes

Der arterielle Druck nach der Infusion größerer Mengen konventioneller SFH-Lösung wird in der Literatur überwiegend im Kontrollbereich gefunden, vorausgesetzt, es ist nicht bereits eine massive Hypovolämie eingetreten (19,20,63,81,83,87,88,105,131,140,144,152,153,158,185).
Ein Abfall des arteriellen Drucks ist erst dann festzustellen, wenn das Blutvolumen unter 80 Prozent des Ausgangswertes gesunken ist (74,157,160, 164), oder wenn die Hämodilution mit SFH-Lösung einen Hämatokrit von 20 Prozent unterschritten hat (63,153,158).
Signifikante Blutdruckanstiege nach konventioneller SFH-Lösung werden nur von UNSELD (188) und VELIKINA (191) beschrieben. UNSELD infundierte

normovolämischen Miniaturschweinen (19-28 kg) 650 ml SFH-Lösung und registrierte bereits während der Infusion einen Anstieg des MAP von 72,4 auf 87,7 - 93,5 mmHg, in den folgenden 2 bis 4 Stunden ein Maximum von 104,2 - 106,5 mmHg. In einer Vergleichsgruppe, der das gleiche Volumen 5%-ige Albuminlösung infundiert wurde, blieb der arterielle Druck aber konstant, so daß eine Hypervolämie als Ursache für den erheblichen Druckanstieg nach SFH nicht in Frage kommen dürfte. Eher ist eine spezifisch vasokonstrikorische Wirkung von SFH-Lösungen zu diskutieren, auf die in der Literatur wiederholt hingewiesen wird (63,74,180).

HERRMANN und LÖBELENZ (74) und SIMMENDINGER (180) infundierten Hunden nach 100-minütiger hämorrhagischer Hypotension SFH bzw. Gelifundol ^{R} bis ein MAP von 100 mmHg erreicht war und fixierten diesen Druck mittels Reservoirtechnik über 2 Stunden. Die Tiere der Gelifundol ^{R}-Gruppe entnahmen dem Reservoir in diesem Zeitraum 550 ml und hielten damit ihr Blutvolumen konstant. Die Tiere der SFH-Gruppe entnahmen jedoch nur 200 ml aus dem Reservoir, obwohl ihr Blutvolumen gleichzeitig erheblich abnahm. Die Autoren schlossen daraus auf einen vasokonstriktorischen Effekt der SFH-Lösung.

Vergleicht man die Blutdruck- und Blutvolumenwerte nach isovolämischer Hämodilution mit Haemaccel ^{R} (113,156) mit denen nach Hämodilution mit SFH-Lösung, so fällt auf, daß bei Blutvolumenwerten zwischen 50 und 70 Prozent vom Kontrollwert der Blutdruck nach SFH-Lösung nicht so weit abfällt, wie dies nach dem Blutaustausch mit Haemaccel ^{R} der Fall ist. So liegt nach isovolämischer Hämodilution mit SFH der arterielle Druck bei Blutvolumina unter 50 Prozent noch bei Werten, die bei isovolämischer Hämodilution mit Haemaccel ^{R} bereits dann eintreten, wenn das Blutvolumen noch 70 Prozent des Kontrollwertes beträgt (63,156).
Wir konnten nach SFH-PLP im Vergleich mit konventioneller SFH-Lösung keine signifikanten Unterschiede im Verhalten des Blutdrucks feststellen.

5.2. Herzzeitvolumen

Die entscheidenden Determinanten des HZV sind - vereinfacht dargestellt - Kontraktilität, Herzfrequenz und Schlagvolumen (155). Die Größe des letzten hängt - neben anderen Faktoren - vom venösen Rückstrom ab, der seinerseits determiniert wird durch die Größe des Blutvolumens und das Ausmaß der Viskositätssenkung infolge Hämodilution (66,113,114,115,116,162).

Über die Veränderungen der aufgeführten Parameter nach Volumenersatz mit Dextran 60 und Gelatinelösungen liegen Befunde vor, an Hand derer die beobachteten Veränderungen des Herzzeitvolumens nach dem Volumenersatz mit SFH- bzw. SFH-PLP-Lösung diskutiert werden sollen.

Unter normovolämischen Bedingungen tritt bei linearer Senkung des Hämatokrits mit Dextran 60 ein exponentieller Abfall der Vollblutviskosität ein (113, 115,116,162,179). SIEGLE beschreibt bei normovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 bei Schergraden von 23 sec^{-1} einen Abfall der apparenten Viskosität auf 43 bis 50 Prozent des Kontrollwertes, wenn der Hämatokrit auf 7 bis 15 Prozent gesenkt wird (179).
Als Folge der Viskositätssenkung resultiert - bei Konstanz von arteriellem Druck und Herzfrequenz - ein überproportionaler Anstieg des venösen Rückstroms und des Herzzeitvolumens, sofern bei der akuten Verdünnungsanämie mit Dextran 60 auf Normovolämie geachtet wird (113,114,117,162).
MESSMER et al. beschreiben nach extremer, normovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 bei Hämatokritwerten von 14 bis 7,8 Prozent einen Anstieg des Herzzeitvolumens auf 170 bis 178 Prozent (113).

Bei isovolämischer Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung findet GROHMANN bei Schergraden von ebenfalls 23 sec^{-1} bei vergleichbaren Hämatokritwerten eine wesentlich ausgeprägtere Senkung der Vollblutviskosität. Sie ist bereits bei einem Hämatokrit von 19,4 auf 45 Prozent reduziert. Beträgt der Hämatokrit 7 Prozent, so ist die apparente Viskosität sogar auf 26 Prozent des Ausgangswertes vermindert (63).

Ausgehend von der niedrigeren Vollblutviskosität wäre somit bei der Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung ein noch deutlicherer Anstieg des HZV zu erwarten gewesen.

SUNDER-PLASSMANN et al. jedoch stellen nach limitierter isovolämischer Hämodilution (Hk = 20%) mit konventioneller SFH-Lösung trotz starker Viskositätssenkung keine Steigerung des HZV fest (158). In einer Vielzahl weiterer Veröffentlichungen wird gezeigt, daß konventionelle SFH-Lösung nach isovolämischem Blutersatz zwar für kurze Zeit das HZV aufrecht zu erhalten vermag, aber nicht oder nur geringfügig ansteigen läßt (63,83,84, 88,131,137,140,157,159,186).
2 Stunden nach isovolämischer Hämodilution (Hkt = 20%) wurde eine Verminderung des HZV auf 70 bis 75 Prozent beschrieben (83,84,158). Bei extremer isovolämischer Hämodilution (Hk = 7) war 2 Stunden nach Austauschende

sogar ein Abfall des HZV auf fast 50 Prozent eingetreten (63,157,158).

Als Ursachen für den ausbleibenden HZV-Anstieg nach isovolämischer Hämodilution mit SFH, bzw. den nach kurzer Zeit auftretenden Abfall sind 3 Faktoren zu diskutieren:

a. Eine potentielle Verminderung der Kontraktilität des Myocards durch SFH.
b. Die Verringerung des venösen Rückstroms als Folge der rasch auftretenden Hypovolämie.
c. Eine Verminderung der Herzfrequenz.

5.2.1.

Eine Abnahme der Kontraktilität des Myocards bei Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung tritt nicht ein. SUNDER-PLASSMANN et al. konnten zeigen, daß sogar bei extremer isovolämischer Hämodilution (Hk = 7%) mit SFH-Lösung kein Abfall des myocardialen Kontraktionsindex nach KRAYENBÜHL (94) besteht (157,158,164). Auch HERRMANN und LÖBELENZ stellen nach Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung keine Kontraktilitätsabnahme fest (74). Befunde über die Kontraktilität des Myocard nach SFH-PLP liegen in der Literatur bisher nicht vor.

5.2.2.

Bereits bei Hämodilutionsversuchen mit Gelatinelösungen (Haemaccel ^{R}) ist wiederholt gezeigt worden, daß die durch Viskositätssenkung erreichte Zunahme des venösen Rückstroms durch die progressive Hypovolämie limitiert wird (115,162).
Die ungenügende Volumenwirksamkeit konventioneller SFH-Lösungen wird als der entscheidende Faktor für den - trotz massiver Viskositätssenkung - ausbleibenden HZV-Anstieg angeführt (63,157,158,159,160,161).
Wurde der rasche Abstrom des freien Hämoglobins dadurch ausgeglichen, daß die entzogenen Blutvolumina durch das doppelte Volumen an konventioneller SFH-Lösung ersetzt wurde, so war initial bei Hämatokritwerten um 10 Prozent ein Anstieg des HZV bis auf 180 Prozent festzustellen (159,160,161,164). Jedoch bereits 1 Stunde nach Austauschende lag das HZV mit nur 80 Prozent wieder signifikant unter dem Kontrollwert (159,160,161,164).
Diese Versuche belegen eindrucksvoll, daß die durch konventionelle SFH-Lösung bewirkte Viskositätssenkung per se keine Rückschlüsse auf die hämodynamische Wirksamkeit gestattet, da letztere in vivo entscheidend vom

Verhalten des Blutvolumens bestimmt wird.

In unseren Versuchen wurde die durch den raschen Abstrom des freien Hämoglobins eintretende Hypovolämie 1 Stunde nach Austauschende durch die Infusion von Ringer-Laktat weitgehend ausgeglichen. Bei den mit SFH-PLP reanimierten Tieren lag das HZV - wenn auch statistisch nicht signifikant - aus 2 Gründen durchweg höher:
Das HZV in Gruppe A konnte deshalb nicht stärker ansteigen, weil mit zunehmender Versuchsdauer eine aus dem signifikanten Anstieg des Hämatokrit ersichtliche Hypovolämie aufgetreten war, obwohl 101 ml/kg Ringer-Laktat infundiert wurden.
In Gruppe B dagegen wurde durch die Zufuhr von 138 ml/kg der Hämatokrit annähernd konstant niedrig gehalten.
Außerdem lag in Gruppe B der Hämatokrit nach der Reanimation signifikant niedriger als in Gruppe A, d.h. es lag eine ausgeprägtere Viskositätssenkung vor.

Die höheren Herzzeitvolumina nach SFH-PLP sind also einerseits durch ein höheres Blutvolumen und andererseits durch günstigere hämorrheologische Verhältnisse zu erklären. Auf eine Volumenwirksamkeit von SFH-PLP darf aus diesem HZV-Anstieg nicht geschlossen werden.

5.2.3.

In mehreren Arbeiten wird über eine ausgeprägte Bradycardie nach der Infusion von konventioneller SFH-Lösung berichtet, wenn die Tiere normovolämisch oder nur mäßig hypovolämisch waren (50,83,84,188). Wiesen die Versuchstiere nach der Infusion von SFH-Lösung eine ausgeprägte Hypovolämie auf, so war der normalerweise bei einer Hypovolämie auftretende Herzfrequenzanstieg (123) nicht zu beobachten (19,74,83,84,131). Selbst bei einem Abfall des Blutvolumens auf 50 bis 60 Prozent überstieg die Herzfrequenz nicht die Ausgangswerte (63,74), d.h. konventionelle SFH-Lösung verhindert durch ihre negativ chronotrope Wirkung einen Herzfrequenzanstieg zur Kompensation einer durch Hypovolämie bedingten Verringerung des Herzzeitvolumens.
Sowohl in früheren (83,84), als auch in den vorliegenden Versuchen mit SFH-PLP tritt ebenfalls eine deutliche Bradycardie auf, sie erscheint aber im Vergleich zu den jeweiligen konventionellen SFH-Lösungen nicht so stark ausgeprägt zu sein.

Über das Verhalten des HZV nach Blutersatz durch SFH- sowie SFH-PLP-Lösung läßt sich zusammenfassend feststellen:

1. Der rasch eintretende HZV-Abfall bei isovolämischem Blutersatz wird in erster Linie durch die ungenügende Volumenwirksamkeit ausgelöst.
2. SFH-Lösung ist aber prinzipiell in der Lage, das HZV zu erhöhen, wenn beim Blutersatz auf Normovolämie geachtet wird. Dies setzt voraus, daß Blutverluste durch mehrfache Volumina an SFH-Lösung ausgeglichen werden, womit allerdings das Risiko einer Volumenüberlastung eingegangen wird.
3. Auf Grund der sehr starken Viskositätssenkung im Vollblut wäre unter normovolämischen Bedingungen ein noch ausgeprägterer HZV-Anstieg zu erwarten, der aber durch die auftretende Bradycardie verhindert wird.
4. Die durch die Viskositätssenkung gewonnenen Vorteile gehen durch die Kombination von ungenügender Volumenwirksamkeit und Bradycardieeffekt verloren.

5.3. Peripherer Gesamtströmungswiderstand

Anhand des Modells der normovolämischen Hämodilution mit Dextran 60 war von MESSMER et al. gezeigt worden, daß bei Hämatokritwerten von 7,8 bis 14 Prozent eine Verminderung des peripheren Gesamtströmungswiderstandes (TPR) auf 50 bis 58 Prozent vom Ausgangswert erfolgt, die streng parallel zur Viskositätssenkung verläuft (113).
Ausgehend von der niedrigeren Vollblutviskosität nach der Hämodilution mit SFH-Lösung, wäre demnach ein noch ausgeprägterer Abfall des TPR zu erwarten gewesen.
Nach isovolämischem Blutersatz sowohl durch konventionelle als auch durch SFH-PLP-Lösung stellten JESCH et al. aber trotz ausgeprägter Viskositätssenkung des Vollblutes einen Anstieg des TPR fest, den sie als Folge der progressiven Hypovolämie interpretierten (83,84). Wenn entzogene Blutvolumina durch die doppelte Menge SFH ersetzt und somit zumindest initial das Auftreten einer Hypovolämie vermieden wurde, trat aber ebenfalls ein Anstieg des TPR ein (63,160). Von GROHMANN wird dieser Befund als Abnahme des perfundierten Gefäßquerschnitts, bedingt durch eine direkt vasokonstriktorische Wirkung der SFH-Lösung gedeutet (63).

In den vorliegenden Versuchen wird der TPR in Gruppe A maximal auf 74 Prozent und in Gruppe B auf 65 Prozent des Kontrollwertes reduziert, d. h. in beiden Gruppen nimmt der TPR weniger stark ab als die Vollblutviskosität.

Das Ausbleiben einer deutlicheren Senkung des TPR kann - besonders in Gruppe A - auf den infolge Bradycardie und Hypovolämie nur mäßig ausgeprägten HZV-Anstieg zurückgeführt werden. Eine auch von anderen Autoren (74,180) diskutierte vasokontriktorische Wirkung muß wohl mit in Betracht gezogen werden, läßt sich jedoch nicht quantifizieren.

5.4. Verhalten des pulmonalen Kreislaufs

In unseren Versuchen war weder nach SFH noch nach SFH-PLP ein Anstieg des Pulmonalarteriendruckes (PAP) oder des Lungenkapillarverschlußdrucks (PCWP) zu registrieren. Eine vasokonstriktorische Wirkung im Lungenkreislauf ist nicht zu erkennen, da der Lungengefäßwiderstand in beiden Gruppen abnimmt. Auch RELIHAN fand in einem isoliert perfundierten Lungenlappen keine vasokonstriktorische Aktivität an Lungenarterien oder -venen (147).
Wichtig erscheint die Beantwortung der Frage, ob SFH- oder SFH-PLP-Lösungen wegen des Abstroms onkotisch aktiver Moleküle ins Lungeninterstitium, vor allem bei gleichzeitiger Infusion größerer Mengen Kristalloidlösung, die Entstehung interstitieller Ödeme begünstigen. FISHMAN führte Studien über die Rolle von Permeabilitätsveränderungen bei der Entstehung von Lungenödemen durch und benützte dabei freies Hämoglobin als Indikator. Eine transkapilläre Filtration des Hämoglobinmoleküls stellte er erst dann fest, wenn der pulmonale Kapillardruck 50 mmHg überschritt (53). Der Autor diskutiert aber mehrere Krankheitsbilder, unter anderem die sog. Schocklunge, die die Lungenkapillarpermeabilität erheblich erhöhen. Es ist anzunehmen, daß unter solchen Bedingungen freies Hämoglobin bereits bei wesentlich geringeren Lungenkapillardrucken ins Interstitium abströmt und über eine Verringerung des onkotischen Gradienten einen weiteren Einstrom von Wasser ins Intersitium begünstigt.

In den vorliegenden Versuchen war durch die extreme Belastung mit Kristalloidlösung in Gruppe A eine Abnahme des KOD im Plasma auf 18,3 mmHg und in Gruppe B sogar auf nur 15,4 mmHg festzustellen. Beide Werte unterschreiten den von LUNDSGAARD-HANSEN angegebenen Wert von 19 - 21 mmHg des KOD, unter welchem, bedingt durch die Verminderung des transkapillären onkotischen Gradienten subklinisch Ödeme auftreten. Klinisch manifest werden diese Ödeme, sobald der KOD unter 13 - 14 mmHg abgefallen ist (102).

In Übereinstimmung hiermit war in unseren Versuchen weder klinisch noch anhand des Verlaufs des arteriellen pO_2 ein Anhalt für ein interstitielles

oder alveoläres Lungenödem festzustellen. SFH- und SFH-PLP-Lösung scheinen somit zumindest in dem vorliegenden, extremen präklinischen Versuchsmodell die Entstehung eines Lungenödems nicht zu begünstigen.

6. O_2-Versorgung der Gewebe

Für die Sauerstoffversorgung des Organismus durch Hämoglobinlösung sind, neben einer Verbesserung der nutritiven Kapillardurchblutung, zwei Kriterien von entscheidender Bedeutung:

1. Extraerythrozytäres Hämoglobin sollte eine dem erythrozytären Hämoglobin vergleichbare O_2-Bindungskapazität aufweisen, d. h. es sollte in ausreichendem Maß O_2 binden und transportieren, um damit das Gesamtsauerstoffangebot zu erhöhen.
2. Die Lage der O_2-Bindungskurve, d. h. freies Hämoglobin muß den gebundenen Sauerstoff in einem, dem erythrozytären Hämoglobin wenigstens annähernd vergleichbaren Ausmaß an die Gewebe abgeben.

6.1. Die O - ...ungskapazität von freiem Hämoglobin

6.1.1. In vitro-Ergebnisse

Untersuchungen anderer Autoren zeigen, daß sich in vitro die O_2-Bindungszahl von Hämoglobin in SFH-Lösungen mit 1,2 - 1,34 ml O_2/gHb kaum von der des erythrozytären Hämo...bins mit 1,39 ml O_2/gHb (40) unterscheidet (61,101,164, 188). In Gruppe A unserer Versuche ergibt jedoch die in vitro-Analyse beim konventionellen Hämoglobin mit 0,99 ml O_2/gHb einen sehr niedrigen Wert, der auf die Anwesenheit von knapp 30 Prozent inaktivem Hämoglobin schließen läßt.

Mit 1,23 - 1,30 ml O_2/gHb weist unsere SFH-PLP-Lösung dagegen eine fast an Normalwerte heranreichende O_2-Bindungszahl auf. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen geben GREENBURG et al. für ihre SFH-PLP-Lösungen O_2-Bindungszahlen von 1,35 - 1,38 ml O_2/gHb an (61). Die Sauerstoffbindungskapazität wird demnach durch eine Pyridoxylierung des Hämoglobins nicht negativ beeinflußt.

6.1.2. In vivo-Ergebnisse

Da das Methämoglobin reduzierende Enzymsystem nur intraerythrocytär vorkommt (im gesunden Organismus finden sich 0,2 - 1 % des Blutfarbstoffs als Methämoglobin) (54), ist in vivo eine potentielle Verminderung der

O_2-Bindungskapazität des freien Hämoglobins primär durch Methämoglobinbildung vorstellbar.
1934 zeigte AMBERSON 36 Stunden, nachdem er Vollblut von Hunden und Katzen gegen aus Rindererythrozyten hergestellte Hämoglobinlösung ausgetauscht hatte, eine Umwandlung von 50 Prozent des noch vorhandenen Hämoglobins in Methämoglobin (1). Nach der Infusion einer aus Humanerythrozyten hergestellten, stromahaltigen Hämoglobinlösung war jedoch weder bei Versuchstieren (3,67), noch bei Menschen (3) eine stärkere Methämoglobinbildung festzustellen.
Auf Grund von bei 37°C durchgeführten in vitro-Untersuchungen wiesen FURLAN und BACHOFEN für im Plasma gelöstes Hämoglobin nach, daß mit sinkendem pO_2 eine verstärkte Methämoglobinbildung eintritt. Die Autoren übertragen dies auf in vivo-Verhältnisse und nehmen bei einem mittleren pO_2 von 60 mmHg eine 50%-ige Umwandlung des freien Hämoglobins zu Methämoglobin innerhalb von 12 Stunden an (58).
Bereits GROHMANN hat darauf hingewiesen, daß wegen der niedrigen Halbwertszeit das freie Hämoglobin den Intravasalraum schon weitestgehend verlassen hat, bevor eine nennenswerte Methämoglobinbildung aus den von FURLAN und BACHOFEN aufgeführten Gründen eine Rolle spielen könnte (63).

JESCH et al. stellten an einem unseren Versuchen entsprechenden Modell 10 Minuten nach Austauschende 4,4 Prozent des Gesamthämoglobins als Methämoglobin fest. Nach 4 Stunden war ein Anstieg auf 6,7 Prozent eingetreten (82).

Keinen Anhalt für eine stärkere Methämoglobinbildung in vivo ergibt auch der, bei Berücksichtigung der jeweiligen arteriellen Sättigung, annähernd gleiche Verlauf von berechneter O_2-Bindungskapazität und gemessenem O_2-Gehalt des Plasmas (63,140,144,145,146,157,160,164).

In unseren Versuchen ist als Folge des hohen Anteils an inaktivem Hämoglobin in Gruppe A die O_2-Bindungskapazität mit 1,0 ml O_2/gHb wesentlich niedriger als in Gruppe B. In beiden Gruppen kann aber aus dem über die gesamte Versuchsdauer parallelen Verlauf von O_2-Kapazität und Konzentration des freien Hämoglobins geschlossen werden, daß zumindest innerhalb der ersten Stunden keine weiter Inaktivierung des extraerythrozytären Hämoglobins erfolgt.

Die aufgeführten Ergebnisse belegen, daß sowohl konventionelle SFH- als auch SFH-PLP-Lösung durchaus in der Lage sind, Sauerstoff zu binden, zu transportieren und damit die O_2-Kapazität des Blutes in Abhängigkeit von der Konzentration der Hämoglobinlösung zu erhöhen. Ferner kann als gesichert angesehen werden, daß beim Blutersatz mit aus Humanerythrozyten hergestellten Hämoglobinlösungen eine bedeutsame Methämoglobinbildung nicht zu befürchten ist.

6.2. Sauerstofftransportkapazität (=O_2-Gesamtangebot) nach Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösungen

Bei der normovolämischen Hämodilution mit Dextran 60 wird bis zu einem Hämatokrit von ca. 25 Prozent die lineare Senkung der O_2-Kapazität des Blutes durch den überproportionalen Anstieg des HZV so kompensiert, daß die O_2-Transportkapazität (HZV x arterieller Blutsauerstoffgehalt) nicht unter den Ausgangswert abfällt (113,162).
Bei weiterer Senkung des Hämatokrit kann jedoch die verdünnungsbedingte Abnahme des Blutsauerstoffgehalts nicht mehr vollständig ausgeglichen werden, so daß eine Verminderung der O_2-Transportkapazität (= Gesamtsauerstoffangebot) entsteht.

Einer der theoretischen Vorteile der Hämodilution mit SFH-Lösung besteht daher darin , den Hämatokritwert noch stärker reduzieren zu können, ohne das Sauerstoffgesamtangebot kritisch zu vermindern, da die durch die Verringerung der Erythrozytenzahl bedingte O_2-Kapazitätsabnahme durch das extraerythrozytäre Hämoglobin teilweise ausgeglichen werden kann.

Zahlreiche Versuche belegen jedoch, daß, bedingt durch die rasche Verminderung des HZV, bei der Hämodilution mit SFH-Lösungen, trotz der höheren O_2-Kapazität des Blutes, die Sauerstofftransportkapazität niedriger ist, als bei vergleichbarer Hämatokritsenkung durch Dextran 60 (63,81,83,84,113, 120,157,158,162).

Bei isovolämischem Austausch von Blut gegen 6%-ige SFH-Lösung trat bei einem Hämatokrit von 30 Prozent ein Abfall des Gesamtsauerstoffangebots auf ca. 73 Prozent ein (rechnerisch aus den von GROHMANN für HZV und art. O_2-Gehalt angegebenen Zahlen ermittelt) (63).

Im Gegensatz dazu ist für die isovolämische Hämodilution mit Dextran 60 bis zu einem Hämatokrit von 30 Prozent, durch die überproportionale Zunahme des Stromzeitvolumens, sogar ein Anstieg des Gesamtsauerstoffangebotes über den Ausgangswert nachgewiesen worden (113,120,162).

Bei extremer, isovolämischer Hämodilution mit 6%-iger SFH-Lösung (Hkt = 7%) war, bei einer O_2-Kapazität des Blutes von 8 Vol%, unmittelbar nach Austauschende das Gesamtsauerstoffangebot auf ca. 45 Prozent reduziert (157), nach einer 2-stündigen Beobachtungsperiode war, trotz einer O_2-Kapazität von 8,6 Vol%, eine extreme Verringerung auf nur noch 24 Prozent festzustellen, die von den Versuchstieren nicht überlebt wurden (63).

Dagegen wurde bei extremer, isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 (Hkt = 7%) bei nur halb so hoher O_2-Kapazität des Blutes (4 Vol%) das Gesamtsauerstoffangebot unmittelbar nach Austauschende zwar etwas stärker auf ca. 35 Prozent reduziert, es trat aber in der Folgezeit keine weitere Verringerung auf und alle Versuchstiere überlebten langfristig (157).

Auch JESCH et al. stellen 4 Stunden nach isovolämischem Austausch von nur 1/3 des Blutvolumens gegen 5%-ige SFH- und SFH-PLP-Lösung einen signifikanten Abfall des Gesamtsauerstoffangebots auf ca. 43 Prozent des Ausgangswertes fest, obwohl durch das freie Hämoglobin die Blut-O_2-Kapazität insgesamt um nur ca. 25 Prozent verringert worden war (83,84).

Unsere Versuchstiere wiesen nach der Reanimation - besonders in Gruppe A - ebenfalls einen signifikanten Abfall des Gesamtsauerstoffangebotes auf. Dies ist einerseits bedingt durch die Verminderung des arteriellen O_2-Gehalts auf 42 bzw. 47 Prozent, andererseits durch den, besonders in Gruppe A, ungenügenden HZV-Anstieg.
Mit zunehmender Versuchsdauer wird das Gesamtsauerstoffangebot noch zusätzlich durch den Abstrom des freien Hämoglobins und die dadurch bedingte O_2-Kapazitätsabnahme verringert.
Der hohe Anteil an inaktivem Hämoglobin in Gruppe A führt zu einer weiteren Verminderung der O_2-Transportkapazität, die sich initial mit ca. 8 Prozent und bei Versuchsende mit ca. 5 Prozent quantifizieren läßt.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß bei Hämodilution mit SFH-Lösungen, trotz der Zufuhr von Sauerstoffträgern, das Gesamtsauerstoffangebot nicht erhöht oder länger aufrecht erhalten wird, sondern durch das rasch abfallende HZV (Hypovolämie, Bradycardie) erniedrigt wird. Beim isovolämischen

Blutersatz durch Dextran 60 liegt bis zu einem Hämatokrit von 7 Prozent das Gesamtsauerstoffangebot durchwegs höher, als beim isovolämischen Blutersatz durch SFH- oder SFH-PLP-Lösungen.
Nachdem gezeigt worden ist, daß eine der entscheidenden Voraussetzungen für die O_2-Versorgung des Organismus, nämlich eine adäquate Erhöhung des Gesamtsauerstoffangebots, durch Hämoglobinlösungen nicht erbracht wird, soll im folgenden Abschnitt diskutiert werden, in welchem Ausmaß SFH-Lösungen eine Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve von Vollblut bewirken und ob daraus eine weitere Beeinträchtigung der O_2-Versorgung des Organismus resultiert.

6.3. Beeinflussung der O_2-Bindungskurve von Vollblut durch SFH-Lösung mit niedrigen und hohen 2,3-DPG-Konzentrationen sowie durch SFH-PLP.

6.3.1. In vitro-Ergebnisse

GREENBURG verdünnte in vitro Vollblut (2,3-DPG = 12 µMol/gHb, p_{50} = 29,3 mmHg) mit konventioneller, DPG-freier SFH-Lösung (2,3-DPG = 0,12 µMol/gHb, p_{50} = 13,35 mmHg) im Verhältnis 1 : 1 und fand eine 2,3-DPG-Konzentration von 9,3 µMol/gHb und einen p_{50} von 21,3 mmHg, der damit exakt dem Mittelwert aus den beiden Ausgangswerten entsprach (60).

Nach der Verdünnung von Vollblut (p_{50} = 26,6 mmHg) mit 5-7%-iger SFH-Lösung hoher 2,3-DPG-Konzentration (4 mMol 2,3-DPG/Mol Hb, p_{50} = 20,6 mmHg) im Verhältnis 1 : 1, betrug der p_{50} aber nur noch 17,9 mmHg und unterschritt damit erheblich den rechnerisch erwarteten Mittelwert von 23,6 mmHg (61). Unklar ist, warum der p_{50} sogar noch deutlich tiefer liegt, als der einer Vergleichsgruppe, in der 2,3-DPG-freies SFH (p_{50} = 12 mmHg) im selben Verhältnis mit Vollblut (p_{50} = 26,6 mmHg) gemischt wurde und der - rechnerisch auch erwartete - p_{50} von 20,4 mmHg gemessen wurde (61).

Wird dagegen Volblut (p_{50} = 26,5 mmHg) mit SFH-PLP (PLP kovalent gebunden, p_{50} = 18,8 mmHg) im selben Verhältnis verdünnt, so liegt der "Misch-p_{50}" mit 24,3 mmHg sogar etwas über dem erwartenden Mittelwert (61).

Diese Ergebnisse zeigen, daß in vitro die Sauerstoffbindungskurve von Vollblut nach der Verdünnung mit konventioneller SFH-Lösung erheblich nach links verschoben wird. Das Ausmaß der Linksverschiebung nimmt dabei offensichtlich

linear mit der Konzentration des extraerythrozytären Hämoglobins zu und läßt sich in vitro auch nicht durch angehobene 2,3-DPG-Titer verringern. Im Gegensatz dazu ist die Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve nach der Verdünnung mit SFH-PLP in vitro deutlich geringer ausgeprägt.

6.3.2. In vivo-Ergebnisse

SUNDER-PLASSMANN et al. beschrieben bereits 1972 bei Hunden nach extremer isovolämischer Hämodilution (Hkt = 7%) mit konventioneller SFH-Lösung (p_{50} = 16 mmHg) mit steigender Konzentration an freiem Hämoglobin eine ausgeprägte Zunahme der Sauerstoffaffinität im Vollblut (157).

PALANI (137,138) und MOSS (131) führten bei Affen mit SFH-Lösung (p_{50} = 14 mmHg) Austauschtransfusionen bis zum Hämatokrit = 0 durch. Bei einer Plasmahämoglobinkonzentration (=Gesamthämoglobinkonzentration) von 6,34 g% bestimmten sie den, ausschließlich vom extraerythrozytären Hämoglobin determinierten p_{50} des Blutes mit 13,5 mmHg.

Eine Stunde nach dem isovolämischen Blutersatz durch SFH-Lösung und Dextran 60 im Verhältnis 1 : 1 (Hkt = 10,9 %), beschreibt ENDRICH eine Verringerung des p_{50} von 30,3 auf 25,6 mmHg, einhergehend mit einem signifikanten Abfall der 2,3-DPG-Konzentration von 23 auf 17,4 µMol/gHb. Zu diesem Zeitpunkt lag der Anteil des freien Hämoglobins bei ca. 25 Prozent des Gesamthämoglobins (50).

Bei einem Anteil des freien Hämoglobins von ca. 50 Prozent (Hkt = 14 %) stellte LOISANCE eine Stunde nach extrakorporaler Perfusion mit SFH-Lösung (p_{50} = 13,5) einen starken Abfall des p_{50} im Blut von 28,1 auf 21,4 mmHg fest (101).

ELIA et al. unterzogen splenektomierte Hunde einer 90-minütigen hämorrhagischen Hypotension und reanimierten anschließend isovolämisch mit 8%-iger SFH-Lösung. Während sie in Kontrollgruppen, die isovolämisch mit Vollblut oder dem 3-fachen Volumen an Ringer-Laktat-Lösung reanimiert worden waren, konstante p_{50}-Werte fanden, trat nach SFH (Hkt = 20,7 %) eine signifikante Verminderung des p_{50} von 38,9 auf 30,2 mmHg auf. Die 2,3-DPG-Konzentrationen im Vollblut waren aber konstant geblieben (48).

Nachdem bei Hunden schrittweise ein Austausch von 10 ml/kg Blut gegen 20 ml/kg SFH-Lösung bis zu einem Hämatokrit von 10 Prozent durchgeführt worden war, ermittelten SUNDER-PLASSMANN et al. einen p_{50} des Plasmahämoglobins von 14,1 mmHg.

Der p_{50} des Vollblutes nahm dabei nur gering von 26,0 auf 23,2 mmHg ab und ging mit einem Abfall der 2,3-DPG-Konzentration von 12,7 auf 7,8 µMol/gHb einher. Für die Beziehung zwischen p_{50} und 2,3-DPG-Konzentration wird dabei ein Korrelationskoeffizient von 0,83 angegeben (159).

Auch an Ratten durchgeführte Versuche, bei denen ein isovolämischer Blutaustausch gegen konventionelle SFH-Lösung bis zu einem Hämatokrit von 10 Prozent durchgeführt wurde, zeigen eine Verringerung des p_{50}-Wertes von 35,2 auf 23,6 mmHg (164).

Mit einer Ausnahme (159) kann bei den aufgeführten Arbeiten - den in vitro-Ergebnissen vergleichbar - eine Verringerung des p_{50}-Wertes im Vollblut festgestellt werden, die quantitativ vom Anteil des freien am Gesamthämoglobin determiniert wird.

Zur Frage, ob SFH-Lösungen mit hohen 2,3-DPG-Konzentrationen und dadurch angehobenen p_{50}-Werten in vivo die O_2-Bindungskurve weniger nach links verschieben, liegen Ergebnisse von GREENBURG (62) und SUNDER-PLASSMANN vor.

GREENBURG zeigte am gleichen Versuchsmodell wie ELIA (48) nach der Reanimation mit SFH-Lösung sehr niedriger 2,3-DPG-Konzentration (p_{50} = 11,9 mmHg, 2,3-DPG = 1,2 µMol/gHb) eine Verringerung des p_{50} im Vollblut auf 77,5 Prozent des Kontrollwertes, einhergehend mit einem überproportionalen Abfall der 2,3-DPG-Konzentration auf 43 Prozent.
Erfolgt die Reanimation jedoch mit einer SFH-Lösung hoher 2,3-DPG-Konzentration (DPG = 5,2 µMol/gHb, p_{50} = 20,8 mmHg, so fiel die 2,3-DPG-Konzentration im Vollblut nur auf 78,5 und der p_{50} nur auf 88,4 Prozent des Kontrollwertes. Er demonstrierte an hand der Lebermitochondrienfunktion, daß - im Gegensatz zu seinen späteren in vitro-Ergebnissen (61) - SFH-Lösungen mit hoher 2,3-DPG-Konzentration in vivo zu einer besseren O_2-Versorgung der Gewebe beitragen, also soche mit niedrigen 2,3-DPG-Titern (62).

Seine Ergebnisse erscheinen fragwürdig, da nach der Reanimation zwischen beiden Versuchsgruppen ein signifikanter Unterschied in der Hämoglobinkonzentration vorliegt. In der Gruppe mit SFH-Lösung niedriger O_2-Affinität (p_{50} = 20,8 mmHg) ist der Anteil des freien Hämoglobins am Gesamthämoglobin wesentlich geringer, als in der Gruppe mit SFH-Lösung hoher Affinität (p_{50} = 11,9 mmHg). In der erstgenannten Gruppe trägt deshalb das erythrozytäre Hämoglobin mit seinem normal hohen p_{50} weitaus mehr zum Gesamt-p_{50} des Blutes bei. Dadurch wird ein höherer p_{50}-Wert und 2,3-DPG-Titer vorgetäuscht, den GREENBURG seiner verbesserten SFH-Lösung zuschreibt.

Im Gegensatz zu GREENBURG's Befunden zum Verlauf des 2,3-DPG-Titers in vivo, stehen auch Ergebnisse von SUNDER-PLASSMANN et al., die bei Hunden nach der Infusion von SFH-Lösung mit hoher 2,3-DPG-Konzentration nachweisen konnten, daß das 2,3-DPG nach 15 Minuten fast völlig aus dem Plasma verschwunden war. Der größte Anteil wurde in Urin und Lymphe nachgewiesen (164).

Zusammenfassend können aus den aufgeführten Ergebnissen über die in vivo-Charakteristik der O_2-Bindungskurve im Vollblut nach Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung die folgenden Feststellungen getroffen werden:
Die in vitro bereits sehr hohe O_2-Affinität freien Hämoglobins ist in vivo sogar noch geringgradig höher. Daraus resultiert bei Infusion von konventionellen SFH-Lösungen eine, mit der Zunahme des Anteils von freiem Hämoglobin am Gesamthämoglobin korrelierende Zunahme der O_2-Affinität des Vollblutes, d. h. mit steigender Plasmahämoglobinkonzentration erfolgt eine Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve des Vollblutes. Mit der Abnahme des Vollblut-p_{50}-Wertes geht eine Verminderung der 2,3-DPG-Konzentration einher.
Höhere 2,3-DPG-Konzentrationen in SFH-Lösungen führen in vivo nicht zu einer Verringerung der O_2-Affinität, da das kleinmolekulare 2,3-DPG-Molekül rasch ausgeschieden wird (164).

Über die in vivo-Charakteristik der O_2-Bindungskurve im Blut nach Hämodilution mit SFH-PLP-Lösungen liegen bisher nur mit von BONHARD hergestellten Lösungen (PLP nicht kovalent gebunden) Ergebnisse vor.

In von SUNDER-PLASSMANN et al. an Ratten durchgeführten Versuchen erwies sich SFH-PLP gegenüber konventioneller SFH-Lösung als Fortschritt. Während der p_{50} nach extremer Hämodilution (Hkt = 10%) mit konventioneller SFH-Lösung von 35,2 auf 23,6 mmHg extrem abgefallen war, lag er nach Hämodilution mit SFH-PLP-Lösung mit 29,0 mmHg signifikant höher (164).

Dagegen stellten JESCH et al. bei Hunden eine und vier Stunden nach isovolämischem Austausch von 20 ml/kg Blut gegen SFH-PLP-Lösung (p_{50} = ca. 25 mmHg) oder konventioneller SFH-Lösung (p_{50} = 11 - 12 mmHg) in beiden Gruppen keine signifikante Veränderung des p_{50}-Wertes im Vollblut gegenüber dem Ausgangswert fest (83,84). Da das freie Hämoglobin nach einer Stunde aber nur ca. 11 bzw. 15 Prozent, und nach 4 Stunden nur ca. 7 bzw. 10 Prozent vom Gesamthämoglobin ausmachte, ist eine nennenswerte Beeinflussung der O_2-Dissoziationskurve durch das freie Hämoglobin schon aus quantitativen Gründen nicht zu erwarten.

In den vorliegenden Versuchen war in Gruppe A eine Stunde nach der Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung (p_{50} = 13,2 mmHg) erwartungsgemäß eine signifikante Verminderung des p_{50}-Wertes im Blut von 30,0 auf 24,1mmHg festzustellen, wobei der Anteil des Plasmahämoglobins 37 Prozent betrug. Auch nach 4 Stunden war der p_{50} unverändert erniedrigt (Plasma-Hb = 24 % vom Gesamt-Hb). In Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Autoren (50,88) ist in Gruppe A eine O_2-Extraktion aus Plasmahämoglobin erst dann zu sehen, wenn bereits über 50 Prozent des erythrozytären Hämoglobins entsättigt sind (Abb. 7). Die Abnahme des Verhältnisses
Extraktion $_{Pl-Hb}$: Extraktion $_{Ery.-Hb}$ von initial 1 : 4,3 auf 1 : 5,8 bei Versuchsende kann als Zunahme der O_2-Affinität des freien Hämoglobins mit fortschreitender Versuchsdauer interpretiert werden. Dies wird auch belegt, durch den nach 4 Stunden unverändert niedrigen p_{50} des Vollbluts.
Hier wäre bei konstanter O_2-Affinität des freien Hämoglobins ein Wiederanstieg zu erwarten, da sich das Verhältnis von Plasmahämoglobin zu erythrozytärem Hämoglobin gegen Versuchsende von 1 : 1,4 auf 1 : 2,4 deutlich zu gunsten des erythrozytären Hämoglobins verschiebt.

Obwohl die Hämoglobinlösung in Gruppe B durch die Pyridoxylierung einen P_{50} von 29,3 - 33,3 mmHg aufwies, erfolgte eine Stunde nach der Reanimation ein signifikanter Abfall des Vollblut-P_{50} auf 25,2 mmHg, wobei das Plasmahämoglobin 43 Prozent vom Gesamthämoglobin ausmachte. Nach 4 Stunden lag die O_2-Affinität des Blutes (P_{50} = 24,7 mmHg) noch etwas höher (Plasma-Hb = 29 % vom Gesamt-Hb).

Somit ist in den vorliegenden Versuchen nach dem Blutersatz durch SFH-PLP die O_2-Bindungskurve des Blutes nahezu genauso ausgeprägt nach links verschoben, wie nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH-Lösung, d. h. SFH-PLP mit seinem in vitro über dem erythrozytären Hämoglobin liegenden P_{50} erfährt in vivo eine extreme Zunahme der O_2-Affinität, die am ehesten durch eine Abspaltung des PLP vom Hämoglobinmolekül erklärt werden kann. Da dieses nicht kovalent, sondern analog dem 2,3-DPG nur durch eine lockere Ionenbindung an das Hämoglobin angelagert ist, erscheint eine dem 2,3-DPG entsprechende Elimination des Pyridoxal-Phosphats nicht ausgeschlossen. Mit 1 : 3,0 zeigt aber das Verhältnis

$$\text{Extraktion}_{\text{Pl.-Hb}} : \text{Extraktion}_{\text{Ery.-Hb}}$$

eine gegenüber dem konventionellen Hämoglobin verbesserte Sauerstoffabgabe. Während aus konventionellem Hämoglobin erst dann 10 Prozent extrahiert werden, wenn bereits 60 Prozent des erythrozytären Hämoglobins entsättigt sind, erhält man die gleiche Extraktionsrate aus SFH-PLP, wenn erythrozytäres Hämoglobin erst zu 40 Prozent entsättigt ist.

In den vorliegenden Versuchen erweist sich somit SFH-PLP zwar einer konventionellen SFH-Lösung überlegen, erreicht aber bei weitem noch nicht eine dem erythrozytären Hämoglobin vergleichbare Charakteristik der O_2-Bindungskurve.

Im folgenden soll nun dargestellt werden, wie sich die unzureichende O_2-Transportkapazität einerseits und die beschriebene Linksverschiebung der O_2-Dissoziationskurve nach SFH und SFH-PLP andererseits auf die O_2-Versorgung des Organismus auswirken.

6.4. O_2-Aufnahme, arteriovenöse Sättigungsdifferenz ($AVDO_2$) und zentralvenöser pO_2 nach dem Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösung.

Trotz der Abnahme des O_2-Angebotes wird die O_2-Aufnahme (HZV x $AVDO_2$) nach dem Blutersatz mit SFH- (49,50,74,83,84,105,131,137,138,188) und SFH-PLP-Lösung (83,84,86) aufrecht erhalten.

Erreicht wird dies durch eine kompensatorische Zunahme der arteriovenösen Sättigungsdifferenz ($AVDO_2$), die bereits beim isovolämischen Austausch von nur 1/3 des Blutvolumens gegen SFH (83,84,153) bzw. SFH-PLP-Lösung (83,84) verdoppelt wird. Bei extremer iso- und hypervolämischer Hämodilution (Hkt = 7 - 10 %) kann 1 bis 2 Stunden nach Austauschende die O_2-Aufnahme nur durch eine Steigerung der $AVDO_2$ auf 60 bis 73 Prozent konstant gehalten werden (63,158,159,161).

Auch in unseren Versuchen bleibt die O_2-Aufnahme in Gruppe A über den gesamten Versuch konstant, in der Gruppe B liegt sie gegen Versuchsende sogar 55 Prozent über dem Ausgangswert, was wahrscheinlich mit der geringer werdenen Narkosetiefe zu erklären ist. In beiden Gruppen reicht die Steigerung des HZV allein nicht aus, um die O_2-Versorgung konstant zu halten. Hierzu ist eine kompensatorische Erhöhung der $AVDO_2$ von 16 bis auf 31 (Sättigungs)-Prozent erforderlich.

Die hohe Extraktionsrate führt zu einer erheblichen Abnahme des venösen pO_2, die anzeigt, daß eine ausreichende O_2-Abgabe an die Gewebe nur durch eine Verringerung des Gewebe-O_2-Partialdrucks, mit der daraus resultierenden Möglichkeit einer Gewebehypoxie, aufrecht erhalten werden kann.

Während bei limitierter, isovolämischer Hämodilution mit Dextran 60 (Hkt = 20 %) eine Verminderung des zentralvenösen pO_2 nicht festzustellen ist (113,115,122), wird nach isovolämischer limitierter Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung ein erheblicher Abfall des c.v.pO_2 von 51 auf 25 mmHg beschrieben (63,157). Eine Stunde nach hypervolämischer extremer Hämodilution mit SFH-Lösung (Hkt = 10 %) lag der venöse pO_2 bei nur noch 11 mmHg (159,161). Eine Verringerung auf nur noch 7 mmHg war 2 Stunden nach extremer, isovolämischer Hämodilution eingetreten (63,157,158,160).

Primär ist als Ursache für den Abfall des c. v.pO_2 die bei fallendem HZV erforderliche Steigerung der O_2-Extraktionsrate anzusehen. In der Literatur angegebene höhere c.v. pO_2-Werte sind deshalb auch überall dort zu finden,

wo entweder eine Abnahme des HZV durch weitere Volumenzufuhr verhindert wurde (49,50,131,137,138) oder die Austauschvolumina so gering waren, daß ein vergleichsweise nur geringer Abfall des HZV eintrat (83,84,153,166).

Aber bereits 1972 konnten SUNDER-PLASSMANN et al. erstmals demonstrieren, daß der extreme Abfall des venösen pO_2 nicht ausschließlich durch die erhöhte O_2-Extraktion erklärbar ist, sondern daß die Linksverschiebung der O_2-Dissoziationskurve eine weitere, zusätzliche Verringerung zur Folge hat. So beschreiben die Autoren einen mit einer venösen Sättigung des Blutes von 29 Prozent einhergehenden Abfall des venösen pO_2 auf 7 mmHg (157). Bei normaler O_2-Affinität des Blutes müßte der venöse pO_2 bei 29 Prozent venöser Sättigung aber noch ca. 20 mmHg betragen.

In unseren Versuchen kann nicht exakt quantifiziert werden, in welchem Ausmaß die Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve für die Verringerung des venösen pO_2 verantwortlich zu machen ist, da - vor allem in Gruppe A - eine erhebliche Erhöhung des venösen pCO_2 vorliegt. Die daraus resultierende Rechtsverschiebung (Bohreffekt) der O_2-Bindungskurve überdeckt den Einfluß der O_2-Affinität des freien Hämoglobins.

6.5. Die Auswirkungen von konventioneller SFH- und SFH-PLP-Lösung auf die Sauerstoffversorgung der Gewebe

Zur Prüfung, in welchem Ausmaß SFH und SFH-PLP zur O_2-Versorgung des Organismus beitragen, wurde bisher nur der Verlauf zentraler hämodynamischer und laborchemischer Parameter (Blutgasanalyse) besprochen. Wiederholt wird in der Literatur aber darauf hingewiesen, daß akute Störungen des Volumenhaushaltes (z.B. hämorrhagischer Schock) bereits zu erheblichen Störungen der Gewebedurchblutung, besonders in Splanchnikusgebiet, Haut und Muskulatur, führen, ohne daß stärkere Veränderungen der über längere Zeit kompensierbaren zentralhämodynamischen Parameter beobachtet werden müssen (92,122,172,182,183).

Auch Veränderungen des zentralen arteriellen oder venösen pO_2 sind keineswegs als Frühindikator für eine akute Störung von Volumenhaushalt oder Atmung aufzufassen (92,121,172,182,183). So wurde von SINAGOWITZ et al. im frühen hämorrhagischen Schock anhand von Muskel-pO_2-Messungen bereits eine massive Gewebehypoxie festgestellt, obwohl der arterielle Druck noch Werte von 110 - 60 mmHg aufwies und der c.v. pO_2 noch bei 40 - 60 mmHg lag (182.183).

Auch MESSMER et al. wiesen nach einem Blutverlust von 52 ml/kg an Hand der O_2-Druckverteilungskurve des Skelettmuskels eine schwere Gewebehypoxie bzw. Anoxie nach, obwohl noch nahezu normale pO_2-Drucke im arteriellen und c.v. Blut vorlagen (125).
Diese Ergebnisse zeigen, daß bei Messungen des venösen pO_2 allein eine Gewebehypoxie nicht sicher erfaßt werden kann. Neuere Untersuchungen belegen ferner, daß die pO_2-Werte im Organ-venösen Blut im Vergleich zu der mit Platinmehrdrahtelektroden gemessenen Gewebe-pO_2-Verteilung sehr hoch sind, so daß es fraglich erscheint, ob der venöse pO_2 überhaupt als für die Gewebeoxygenierung representative Größe angesehen werden kann (92,125).

Um die Wirksamkeit von SFH- und SFH-PLP-Lösungen beurteilen zu können, muß deshalb die lokale O_2-Versorgung im Gewebe gemessen werden. Als aussagekräftige Methode hat sich hierfür die Erfassung der lokalen O_2-Partialdrucke bewährt (89,90,91,92,93,95,96,103,104,115,117,159,161,172,182,183). In den vorliegenden Versuchen wurde die Gewebe-pO_2-Messung am Skelettmuskel (m. sartorius) durchgeführt, da er leicht zugänglich ist und als zuverlässiger Frühindikator für lokale O_2-Versorgungsstörungen angesehen werden kann (125,182,183).

Die Beurteilungskriterien für pO_2-Histogramme sind nach LÜBBERS die absoluten O_2-Druckwerte, die Lage des pO_2-Maximums (Klassenhäufung) und die Gesamtform (104). Durch die Angabe eines "mittleren Gewebe-pO_2" kann dagegen die Gewebesituation nicht erfaßt werden (104). Unter Normalbedingungen ist das pO_2-Histogramm links schief glockenförmig. Eine Verschlechterung der O_2-Versorgung hat eine Vermehrung niedriger pO_2-Werte zur Folge. Das pO_2-Histogramm wird noch mehr links schief und im ganzen nach links verschoben (104).

SUNDER-PLASSMANN et al. hatten bei hypervolämischer Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung (20 ml/kg Blut bis Hkt = 10 %) demonstriert, daß bei limitierter Blutverdünnung (Hkt = 22 %) die Gewebe pO_2-Drucke in Leber und Skelettmuskel aufrecht erhalten werden, in Pankreas, Niere und Dünndarm aber abnehmen, obwohl das HZV 55 Prozent über dem Ausgangswert lag (159,160,161).

Ebenfalls 55 Prozent über den Kontrollwert erhöht ist das HZV bei limitierter normovolämischer Hämodilution mit Dextran 60, bei der kein Abfall der Gewebe-pO_2-Werte in Dünndarm, Pankreas (125) und Niere zu finden ist (115,116,122). Trotz gleich hohem HZV und deutlich höherem O_2-Gesamt-

angebot (Plasma-Hb-Konz. = 3,6 g%) war somit bereits bei limitierter Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung eine Verschlechterung der O_2-Gewebeversorgung festzustellen, die als Folge der hohen O_2-Affinität des freien Hämoglobins diskutiert werden muß. Quantitativ tritt dieser Faktor als Ursache für die ungenügende O_2-Versorgung der Gewebe aber weit hinter dem Faktor Hypovolämie und dem daraus resultierenden HZV-Abfall zurück. Dies ist aus der extremen Abnahme der Gewebe-pO_2-Werte eine Stunde nach Austauschende (Hkt = 12 %) zu ersehen, in der das HZV von anfangs 184 auf 90 Prozent abgefallen war (115,116,122).

Während bei SUNDER-PLASSMANN die O_2-Versorgung der Gewebe nach limitierter Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung eher als unbefriedigend einzustufen ist, beschreibt FEOLA bei vergleichbaren Dilutionsgraden (Hkt = 23 %) eine Verbesserung der O_2-Versorgung des Myocards. Die Ergebnisse von FEOLA et al. stehen aber nicht im Widerspruch zu denen von SUNDER-PLASSMANN, da ihre Untersuchungen am ischämisch geschädigten Myocard durchgeführt worden waren, wobei initial eine Anoxie des Myocards (pO_2 = 0) vorlag. Nach der Hämodilution mit SFH war ein Anstieg des Gewebe-pO_2 auf 7 mmHg festzustellen (52). Nach den in Abschnitt 5.4. besprochenen Ergebnissen kann aber davon ausgegangen werden, daß bei Anoxie konventionelle SFH-Lösung trotz ihrer hohen O_2-Affinität O_2 ans Myocard abgibt.

In unseren Versuchen sind die mit konventioneller SFH-Lösung erhaltenen Histogramme nur unter Vorbehalt zu diskutieren, da die geringe Zahl der Einzelmessungen (n = 20 - 24) eine exakte Beurteilung der O_2-Versorgung nicht gestattet (104).
LÜBBERS empfiehlt Meßzahlen von n = 80 - 200, wenn wie bei uns Klassengrößen von 5 Torr verwendet werden (104).
In Gruppe B ist eine genaue Aussage über die Gewebe-pO_2-Verteilung möglich, da die Zahl der Einzelmessungen 168 - 194 beträgt.
Die Kontrollwerte zeigen in beiden Gruppen - besonders deutlich in Gruppe A - eine wahrscheinlich durch das chirurgische Trauma (115,116,122) bedingte Störung der O_2-Versorgung, erkennbar an der deutlichen Linksverschiebung der pO_2-Histogramme.

Die Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung zeigt 10 Minuten nach Austauschende im Vergleich zur Kontrollmessung eine Verschlechterung der Gewebe-pO_2-Verteilung, 60 Prozent aller pO_2-Werte liegen im hypoxischen Bereich. Auch nach 60 Minuten erweist sich die Gewebe-O_2-Versorgung als noch erheblich gestört. Erst nach 120 Minuten ist eine

gegenüber den Kontrollwerten geringe Verbesserung der O_2-Versorgung festzustellen. Bei Versuchsende kann zum ersten Mal von einer deutlichen Verbesserung der Mikrozirkulation gesprochen werden.

Die Reanimation mit SFH-PLP zeigt dagegen bereits 10 Minuten nach Austauschende ein dem Kontrollwert entsprechendes pO_2-Histogramm, d. h. die durch die Entblutung massiv gestörte O_2-Versorgung ist schon wieder annähernd normalisiert. Bei den später folgenden Messungen belegen die Absolutwerte, die Klassenhäufung bei 30 - 60 mmHg und die Form der pO_2-Histogramme eine sehr gute O_2-Versorgung der Gewebe.

Um eine exakte Aussage darüber machen zu können, ob die wesentlich bessere Gewebesituation nach SFH-PLP eine Folge der niedrigeren O_2-Affinität ist (81,126), müssen aber noch andere, die lokale pO_2-Verteilung der Gewebe beeinflussende Faktoren besprochen werden.
Nach KESSLER et al. sind dies die O_2-Kapazität des Blutes, die konvektive Komponente der Mikrozirkulation in den einzelnen Kapillaren und der zelluläre O_2-Verbrauch, mit dem daraus resultierenden Diffusionsstrom von O_2-Molekülen bis zu den Mitochondrien (91).
In der O_2-Kapazität bestand zwischen beiden Gruppen kein statistisch auffälliger Unterschied.

In den vorliegenden Versuchen war die kapilläre Durchströmung nicht direkt gemessen worden. MESSMER et al. hatten aber mittels Doppelisotopen-Clearance-Technik nachgewiesen, daß die normovolämische Verdünnung des Blutes durch Dextran 60 zu einem parallelen Anstieg von HZV und nutritiver Skelettmuskeldurchblutung führt (114). In unseren Versuchen kann angenommen werden, daß die nach SFH-PLP gesteigerten Herzzeitvolumina ebenfalls eine erhöhte kapilläre Durchströmung zur Folge haben. Die nach SFH-PLP verbesserte Gewebe-pO_2-Verteilung muß somit zumindest teilweise als Folge einer besseren Perfusion interpretiert werden.
Über den zellulären O_2-Verbrauch der Skelettmuskulatur kann in den vorliegenden Versuchen ebenfalls keine direkte Aussage gemacht werden, es muß aber erwähnt werden, daß in Gruppe A der globale O_2-Verbrauch annähernd konstant blieb, während er in Gruppe B kontinuierlich anstieg und bei Versuchsende 55 Prozent über dem Ausgangswert lag. Für die Erklärung der besseren Gewebe-pO_2-Verteilung nach SFH-PLP muß daher ein potentiell höherer O_2-Verbrauch mit in die Diskussion einbezogen werden, zumal die Narkose - im Gegensatz zu Gruppe A - so flach gehalten worden war, daß

gerade kein Muskelzittern zu erkennen war.

In wie weit die niedrigere O_2-Affinität von SFH-PLP neben den aufgeführten Faktoren für die bessere O_2-Versorgung verantwortlich zu machen ist, kann nicht exakt festgestellt werden.

KESSLER et al. konnten allerdings zeigen, daß die O_2-Bindungskurve des Blutes und die O_2-Druckverteilungskurve des Gewebes eindeutig miteinander korrelieren (91). Sie wiesen an der Rattenleber nach, daß unter normalen Bedingungen das pO_2-Histogramm fast vollständig durch die O_2-Bindungskurve des Hämoglobins determiniert wird. Sobald aber entweder eine gesteigerte Durchblutung oder hohe arterielle pO_2-Werte vorlagen, war der Einfluß der O_2-Bindungskurve auf die O_2-Druckverteilungskurve der Gewebe wesentlich geringer.

Auf unsere Versuche übertragen, würde das bedeuten, daß bei den hohen Herzzeitvolumina in Gruppe B die niedrigere O_2-Affinität eventuell nur eine untergeordnete Rolle neben den anderen, die O_2-Bindungskurve determinierenden Größen (HZV, O_2-Verbrauch) spielt.
Umgekehrt wäre zu folgern, daß in Gruppe A, in der die Herzzeitvolumina nur gering ansteigen, die O_2-Druckverteilungskurve des Skelettmuskels nicht nur durch die geringere Druchblutung, sondern auch stärker durch die Linksverschiebung der O_2-Bindungskurve des Blutes beeinflußt wird.

7. Säure-Basenhaushalt

Erythrozyten spielen nicht nur beim O_2-Transport, sondern auch beim CO_2-Transport und bei der Pufferung eine entscheidende Rolle.

Das physikalisch gelöste CO_2 diffundiert aus den Geweben über das Plasma in die Erythrozyten. Dort wird der Hauptanteil durch das Enzym Carboanhydrase in Bicarbonat und H^+ -Ionen verwandelt. Ein geringerer Teil des CO_2 reagiert sofort mit dem Hämoglobin unter Bildung von Carbamino-Hämoglobin und H^+ -Ionen. Dieser Prozeß ist stark begünstigt durch die gleichzeitig stattfindende Desoxygenation des Hämoglobins (HALDANE-Effekt). Die bei der Bicarbonat und Carbamatbildung entstehenden H^+ -Ionen werden von den Nicht-Bicarbonat-Puffersystemen des Blutes (vor allem Hämoglobin, aber auch Plasmaproteinen und intraerythrozytären organischen Phosphaten) abgepuffert.

Im folgenden soll nun diskutiert werden, ob einerseits das Fehlen des Enzyms Carboanhydrase in SFH-Lösungen und andererseits die, wegen der geringen Desoxygenation, theoretisch vorstellbare verminderte Carbaminobildung des freien Hämoglobins den CO_2-Abtransport stören und damit das Entstehen einer Azidose begünstigen könnte.

7.1. Verhalten des pH und pCO_2 nach dem Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösungen

GREENBURG hatte in vitro nachgewiesen, daß SFH-Lösung eine dem Vollblut vergleichbare hohe Pufferkapazität aufweist (60).

In vivo wurden nach Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung immer dann dem Kontrollwert ähnliche arterielle (20,48,75,166,188) und zentralvenöse (49,50,63,131,137,138,166) pH-Werte beschrieben, wenn das HZV konstant oder nur gering vermindert war. Eine massive metabolische Azidose trat dann auf, wenn das HZV auf 50 bis 60 Prozent des Kontrollwertes abgefallen war (63,83,84).

In der Literatur werden sowohl bei limitierter (48,63,74,168) als auch bei extremer Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung (20,63) keine signifikanten Veränderungen des arteriellen pCO_2 beschrieben.
Wenn allerdings eine massive Verringerung des HZV eintrat, war ein signifikanter Abfall des arteriellen pCO_2 festzustellen, der aber wahrscheinlich auf eine Hyperventilation zurückzuführen ist (63,74).

Einen signifikanten Anstieg des c.v. pCO_2 bei abfallender Alkalireserve stellte GROHMANN bei extremer Hämodilution (Hkt = 7 %) mit konventioneller SFH-Lösung fest. Daraus wäre eventuell eine nicht ausreichende Carboanhydraseaktivität und/oder Carbaminobildung zu folgern.

Bei völligem Fehlen von Erythrozyten stellten PALANI (137,138) und MOSS (131) jedoch keinen Anstieg des c.v. pCO_2 fest. Sie nehmen deshalb eine ausreichende Carbaminobildung des freien Hämoglobins und/oder eine Erhaltung der Carboanhydraseaktivität in ihrer SFH-Lösung an, ohne allerdings letzteres (durch z.B. Elektrophorese) zu erhärten.

In unseren Versuchen liegt der c.v. pCO_2 10 Minuten nach Austauschende in beiden Gruppen signifikant über dem Kontrollwert, während Bicarbonatkonzentration und c.v. pH signifikant abgefallen sind. Dies kann über-

wiegend mit dem "washout Phänomen" (15) erklärt werden, d. h. während der Entblutungsphase im Gewebe entstandenes CO_2 und H^+ -Ionen werden nach der Reanimation ausgewaschen.

In Gruppe A nimmt der c.v. pCO_2 mit zunehmender Versuchsdauer aber weiter zu, einhergehend mit einem deutlichen pH-Abfall. Da aber das Standardbicarbonat konstant bleibt, ist dieser Befund am ehesten als respiratorische Azidose, bedingt durch eine zu tiefe Narkose, zu diskutieren.

In Gruppe B treten, bis auf den 10-Minutenwert, keine nennenswerten Veränderungen des Säure-Basenhaushalts auf.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH- und SFH-PLP-Lösung Störungen des Säure-Basenhaushalts nur als Folge der rasch eintretenden Hypovolämie und dem daraus resultierenden HZV-Abfall zu erwarten sind.

8. Bilirubinstoffwechsel

Da der überwiegende Teil des freien Hämoglobins im RES abgebaut wird, muß geklärt werden, ob bei hohen Plasmahämoglobinkonzentrationen mit einem Anstieg des Bilirubins im Serum gerechnet werden muß.

FÖRSTER konnte bei der Infusion einer Hämoglobinmenge von 3 g/kg bei Ratten keine Veränderung des Serumbilirubinspiegels feststellen (56).

VELIKINA hatte Menschen innerhalb von 1 bis 3 Tagen maximal 1,3 g Hb/kg in Form einer 2,5 - 3%-igen Hämoglobinlösung zugeführt und ebenfalls keine Störung des Bilirubinstoffwechsels gefunden (191).

Nach der Infusion von 650 ml einer konventionellen SFH-Lösung (Plasma-Hb-Konzentration = 1,6 - 3,3 g%) beschreibt UNSELD bei Miniaturschweinen einen mäßigen Anstieg des Gesamtbilirubins von 0,11 auf 0,95 mg% (188).

Einen deutlichen Anstieg des Gesamtbilirubins von 2,3 auf 12,7 mg/l stellte SZTUKA nach der Infusion von ca. 1,1 gHb/kg bei Hunden fest (Plasma-Hb-Konz. = max. 1,7 g%) (185).

Ebenso wie ENDRICH (50) konnten wir bei unseren Versuchstieren keine Erhöhung der Serumbilirubinkonzentration feststellen, obwohl Plasmahämoglobinkonzentrationen bis zu 3,2 g% erreicht wurden.

Auf Grund dieser Ergebnisse muß beim Blutersatz mit SFH- bzw. SFH-PLP-Lösungen bei nicht vorgeschädigter Leber kein stärkerer Anstieg des Bilirubins befürchtet werden.

9. Pathologisch-anatomische Veränderungen

9.1. Leber

Die nach dem Blutersatz durch SFH-Lösungen beobachteten histologischen Veränderungen der Leber sind recht unterschiedlich.
Manche Autoren fanden überhaupt keine Veränderungen, auch keine Hämoglobin- oder Hämosiderinablagerungen in Hepatozyten oder Sternzellen (147,148,149 153). Nach extremem Austausch bis Hkt = 3 Prozent und Plasmahämoglobinkonzentrationen bis zu 6,2g% beschreiben RABINER et al. nur das Auftreten von wenig braunem Pigment in den Hepatozyten (138,146).

Ebenfalls nur zytoplasmatische Hämoglobinablagerungen gibt Förster nach isolierter Perfusion der Rattenleber mit einem Gemisch aus SFH-Lösung und Haemaccel ^{R} an (56).

SZTUKA et al. infundierten 16 normovolämischen Hunden 20 ml/kg einer 5,5%-igen SFH-Lösung, von denen 8 in der folgenden Nacht verstarben. Bei den Versuchstieren erfolgte während der 1-stündigen Infusion ein Abfall des Hämatokrit von 50 auf 43 Prozent. Die SGOT stieg signifikant von 80 auf 166 U.I. Bei den 8 verstorbenen Tieren waren ein hämorrhagischer Ascites, sowie eine Leberstauung festzustellen. Histologisch fanden sich neben der Stauung in einigen Fällen läppchenzentrale Nekrosen. Ferner beschreibt er das Auftreten von Thromben und ungeklärtem, schwarzen Pigment in den Sinusoiden der Leber (185).

Erhebliche Zellschäden stellten FÖRSTER (57) und SCHNEIDER (171) fest, nachdem sie Ratten innerhalb von 3 Stunden 18 ml einer 6%-igen SFH-Lösung von BONHARD (entsprechend 2,3 - 3 g Hb/kg) infundiert hatten.

Elektronenmikroskopisch erwiesen sich die Hepatozyten als glykogenfrei, das endoplasmatische Reticulum war aufgelöst und teilweise vacuolisiert, die Mitochondrien waren erheblich,bis hin zur Cristolyse, geschwollen. In den ersten 3 Tagen war in den Sternzellen Hämoglobin, aber kein

Hämosiderin nachweisbar.

BURCK et al. infundierten Kaninchen 1,8 gHb/kg in Form einer 6%-igen SFH-Lösung von BONHARD. Bei der Hälfte der Versuchstiere fand er als Zeichen eines Schocks sog. Kollapsstraßen zwischen den Zentralvenen und häufig eine hypoxische Vacuolisierung (29).

Qualitativ und quantitativ die selben Veränderungen beschreibt er aber auch nach der Infusion von 1,8 gHb/kg in Form einer stromahaltigen Hämoglobinlösung (29).

Da auch BAKER und DAWES (4) sowohl nach der Infusion von Hämolysaten als auch nach der einer gesichert stromahaltigen (144) Hämoglobinlösung nach HAMILTON (67) Nekrosen in den Leberläppchen und kleine Infarkte in der Peripherie der Leber fanden, ist anzunehmen, daß die von SZTUKA (185), SCHNEIDER (171) und FÖRSTER (57) beschriebenen Veränderungen auf eine ungenügende Entfernung der Stromata in der Hämoglobinlösung zurückzuführen sind.

In unseren Versuchen waren die Tiere heparinisiert. In Gruppe A bestimmten eine Sternzellsiderose und eine unterschiedlich stark ausgeprägte Vacuolisierung der Hepatozyten das histologische Bild. Die Vacuolisierung ist teilweise als Folge der wiederholten Barbituratnarkose (Splenektomie) zu erklären. Ebenfalls eine Rolle spielt wahrscheinlich die ausgeprägte Anämie in den postoperativen Tagen.
In Gruppe B ist bei den 4 überlebenden Versuchstieren ebenfalls eine Vacuolisierung der Hepatozyten zu finden.
Die einmal beschriebenen läppchenzentralen älteren Nekrosen sind eventuell als Folge einer während des Versuchs aufgetretenen Urticaria, die sich in Form kleiner erhabener roter Flecken mit geringem Ödem und kurz dauerndem Blutdruckabfall manifestierte, zu interpretieren.
Bei einem der 3 nach Versuchsende gestorbenen Versuchstiere werden vom Pathologen läppchenzentral frischere Nekrosen beschrieben. Da bei diesem Tier eine Aspirationspneumonie als Todesursache anzusehen ist, kann dieser Befund am ehesten als Folge einer in der terminalen Phase aufgetretenen Hypoxämie diskutiert werden.
Bei den beiden anderen verstorbenen Versuchstieren wurde eine feintropfige Vacuolisierung beschrieben.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß vollständig stromafreie Hämoglobinlösungen außer intrazellulären Hämoglobin- und eventuell Hämosiderinablagerungen keine histologisch verifizierbaren Leberschäden verursachen (56,138,146,147,148,149,153).

Weitere Untersuchungen müssen allerdings noch über die von LOISANCE (101) nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH-Lösung beobachtete Schädigung der Gallenblase durchgeführt werden.

9. 2. Lungen

In den vorliegenden Versuchen trat in Gruppe A bei 3 Versuchstieren eine deutliche Vermehrung von Megakaryozyten in den Lungenkapillaren auf, wie man sie nach PIELSTICKER (141) in der Humanpathologie bei hypovolämischem oder septischem Schock finden kann. Hämosiderin in Alveolarmakrophagen wurde in beiden Gruppen nachgewiesen. Einmal wurde in Gruppe A ein nicht erklärbares herdförmiges Lungenödem mit einer fibrinösen Pleuritis festgestellt.

Bei den überlebenden Tieren der Gruppe B waren außer Dystelektasen keine stärker auffallenden Veränderungen zu registrieren.

Eines der nach SFH-PLP verstorbenen Tiere wies ein diffuses Lungenödem, sowie in einzelnen Pulmonalarterienästen frische, nicht wandadhärente Emboli auf. Da nach LUNDSGAARD-HANSEN (102) ein KOD von ca. 13 mmHg als Schwelle für klinisch manifeste Ödeme anzusehen ist, kann bei diesem Versuchstier das diffuse Lungenödem durch den Abfall des KOD auf ca. 10,5 mmHg und/oder eine terminale Linksherzinsuffizienz erklärt werden. Die frischen Emboli sind vielleicht Folge einer trotz Heparin abgelaufenen intravasalen Gerinnung.

Ansonsten wird in der Literatur nur ein einziges Mal über das Auftreten eines Lungenödems berichtet, das nach 1-stündiger extrakorporaler Perfusion mit 500 ml SFH-Lösung (Hkt = 11%) von HOLDEFER an einem Versuchstier beobachtet wurde. Über eine mögliche Ursache macht er jedoch keine Angaben (75).

COLLINS reanimierte Ratten nach hämorrhagischer Hypotension mit verschiedenen Lösungen, u. a. auch mit 7%-iger SFH-Lösung und fand bei den

überlebenden Tieren keinen Unterschied im Wassergehalt der Lungen (34).

Nachdem auch von mehreren anderen Autoren (145,147,149,153) nach der Infusion von SFH-Lösungen keinerlei histologisch erkennbare Lungenveränderungen angegeben werden, kann angenommen werden, daß der Blutersatz mit Hämoglobinlösungen keine durch das freie Hämoglobin bedingte Schädigung der Lungen bewirkt.

9.3. Nieren und Herz

Auf die in der Literatur beschriebenen histologischen Veränderungen der Nieren wurde bereits ausführlich eingegangen (Abschnitt D. 2.).

In unseren Versuchen fielen in beiden Gruppen feinstäubige Hämosiderinablagerungen in den Hauptstückepithelien, besonders im Bürstensaumbereich auf. Dies steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen verschiedener Autoren (18,28,51,99). die nachweisen konnten, daß die aktive Reabsorbtion von freiem Hämoglobin aus dem Ultrafiltrat überwiegend in den proximalen Tubulusabschnitten erfolgt. Während aber Eisen in Leber, Milz und Knochenmark relativ rasch zur Resynthese von Hämoglobin verwendet wird, erfolgt die Remobilisation des Eisens aus der Niere nur sehr langsam (28) und bleibt somit als Hämosiderin histologisch lange nachweisbar.

Histologische Untersuchungsbefunde des Herzens nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH-Lösungen werden von FEOLA (52) und HOLDEFER (75) mitgeteilt.
HOLDEFER (75) perfundierte ein Hundeherz in situ bei 25° C mit 7,6%-iger SFH-Lösung. Er konnte keine histologischen Veränderungen feststellen.

FEOLA löste bei Hunden durch die temporäre Ligatur eines Koronararterienastes einen umschriebenen, ischämischen Herzinfarkt aus. Eine anschließend durchgeführte Hämodilution mit konventioneller SFH-Lösung ergab elektronenmikroskopisch ein signifikant besseres Gewebebild, als in einer Vergleichsgruppe, bei der keine Hämodilution durchgeführt worden war (52).

In unseren Versuchen kam in Gruppe A in einem Fall eine geringe Siderose in einzelnen Kapillarendothelien zur Darstellung.
In Gruppe B wurden bei den überlebenden Tieren einmal kleine, nicht mehr ganz frische Myozytolysen nachgewiesen, deren Ursache unklar ist. Bei den

verstorbenen Tieren wurde in einem Fall ein interstitielles Ödem festgestellt, das durch die extreme Hyponkie erklärt werden kann (KOD = ca. 10,5 mmHg).

Die histologischen Ergebnisse zeigen, daß beim Blutersatz mit vollständig stromafreien Hämoglobin- bzw. SFH-PLP-Lösungen keine pathologischen Organveränderungen zu erwarten sind.

10. Ausblick

Entscheidend für die klinische Verwendung von SFH- bzw. SFH-PLP-Lösungen ist eine Verbesserung der Volumenwirksamkeit. Verschiedene Autoren versuchten den raschen Abstrom des freien Hämoglobins durch eine Vergrößerung des Moleküls zu verhindern (23,27,57,129,152,164,171).

SUNDER-PLASSMANN et al. koppelten Hämoglobin an Albumin, Oxypolygelatine oder verbanden Hämoglobinmoleküle miteinander. Nach isovolämischem Blutersatz durch "Häm-Albumin" bei Ratten fanden sie im Vergleich zu konventioneller und SFH-PLP-Lösung ein signifikant höheres Blutvolumen, einen signifikant höheren arteriellen Druck und eine verlängerte Überlebenszeit (164).
Allerdings zeigte die O_2-Bindungskurve von "Häm-Albumin" nicht mehr die typische S-Form und war extrem nach links verschoben.

Eine dem Myoglobin vergleichbare O_2-Bindungskurve beschreibt BUNN, nachdem er freies Hämoglobin an Bis (N-maleimidomethyl) ether (BME) gebunden hatte und damit die intravasale Verweildauer des Hämoglobins wesentlich verlängert hatte (27).

FÖRSTER (57) und SCHNEIDER (171) konnten den Zeitpunkt, zu dem die Konzentration des freien Hämoglobins im Plasma auf die Hälfte abgesunken war durch Polymerisation des Hämoglobinmoleküls (Mol.gew. = 120.000) auf 13 Stunden verlangern. Im Gegensatz zu konventioneller SFH-Lösung von BONHARD bewirkte polymerisiertes Hämoglobin keine Nierentubulusnekrosen und nur einen vergleichsweise geringen Zellschaden der Hepatozyten. Über die O_2-Affinität des Polymerisats machten die Autoren keine Aussage.

MOK et al. verlängerten die intravasale Verweildauer von freiem Hämoglobin durch die chemische Reaktion mit Diimid-estern (Mol. gew. = 68.000 - 600.000)

erheblich. Sie stellen fest, daß das modifizierte Hämoglobin zwar Sauerstoff zu binden vermag, aber die ungenügende O_2-Abgabe an die Gewebe ein noch ungeklärtes Problem darstellt (129).

ROSENBERG berichtet ebenfalls über 2 Hämoglobinpräparationen, die deutlich langsamer aus dem Intravasalraum eliminiert werden, aber eine dem Myoglobin vergleichbare O_2-Bindungskurve aufweisen (152).

Neben der potentiellen Nephrotoxizität haben sich bisher die ungenügende Volumenwirksamkeit und die hohe O_2-Affinität als entscheidende Hindernisse für eine klinische Anwendung von Hämoglobinlösungen erwiesen. Durch die Pyridoxylierung des Hämoglobins wurde zumindest, was die O_2-Abgabecharakteristik betrifft, ein geringer Fortschritt erzielt. Die aber sicher noch wichtigere Verbesserung der Volumenwirksamkeit von Hämoglobinlösungen hat aber bisher immer zu einer teilweise extremen Zunahme der O_2-Affinität des Hämoglobins geführt.
Hämoglobinlösungen sind solange nicht den bisherigen kolloidalen Blutersatzmitteln überlegen und damit klinisch anwendbar, bis nicht eine dem erythrozytären Hämoglobin vergleichbare Charakteristik der O_2-Bindungskurve und eine wesentliche Verbesserung der Volumenwirksamkeit erreicht werden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. In den vorliegenden Versuchen wurde eine durch Pyridoxylierung modifizierte stromafreie Hämoglobinlösung (SFH-PLP) niederer O_2-Affinität (P_{50} = 29,3 - 33,3 mmHg) *in vivo* mit konventioneller SFH-Lösung hoher O_2-Affinität (P_{50} = 13,2 mmHg) hinsichtlich hämodynamischer Wirksamkeit, O_2-Transportfunktion und Gewebe-O_2-Versorgung verglichen. Zu diesem Zweck wurden je 7 splenektomierte Hunde arteriell entblutet, bis 2/3 des Sollblutvolumens entzogen waren und anschließend mit Dextran 60 und SFH- bzw. SFH-PLP-Lösung im Verhältnis 1 : 4 reanimiert. 60 Minuten nach Austauschende wurde der rechte Vorhofdruck durch Infusion von Ringer-Laktat-Lösung auf den Ausgangswert eingestellt und über die folgende 3-Stunden-Periode durch fortlaufende Infusion konstant gehalten.
Nach Katheterentfernung und Wundverschluß wurden die Versuchstiere zur weiteren Beobachtung in den Stall gebracht und nach 7 Tagen getötet, um histologische Untersuchungen verschiedener Organe durchzuführen.

2. Es konnte gezeigt werden, daß sich im Verhalten der zentralhämodynamischen Parameter (HZV, MAP, PAP) keine signifikanten Unterschiede ergeben. Konventionelle und in geringerem Ausmaß auch SFH-PLP-Lösung wirken negativ chronotrop und limitieren damit nach dem Blutaustausch einen adäquaten Anstieg des Herzzeitvolumens.

3. Mit 1,23 - 1,3 ml O_2/g Hb weist SFH-PLP *in vitro* eine fast dem erythrozytären Hämoglobin (1,39 ml O_2/g Hb) vergleichbare O_2-Bindungszahl auf. *In vivo* war weder bei konventionellem SFH noch bei SFH-PLP im 4-stündigen Untersuchungszeitraum eine nennenswerte Inaktivierung des Hämoglobins festzustellen.

4. Die dilutionsbedingte Verminderung des arteriellen O_2-Gehalts, der Abstrom des freien Hämoglobins mit zunehmender Versuchsdauer und der inadäquate Anstieg des Herzzeitvolumens führen in beiden Gruppen zu einer signifikanten Verminderung des Gesamtsauerstoffangebots.

5. Dennoch wird die Sauerstoffaufnahme nach dem Blutersatz durch SFH- und SFH-PLP-Lösung aufrecht erhalten. Erreicht wird dies durch eine kompensatorische Erhöhung der $AVDO_2$ im Vollblut von 16 bis auf 31 (Sättigungs)-Prozent. Die hohe O_2-Extraktion hat in beiden Gruppen eine signifikante Abnahme des zentralvenösen pO_2 zur Folge.

6. Die Reanimation mit konventioneller SFH-Lösung (p_{50} = 13,2 mmHg) bewirkt einen signifikanten Abfall des p_{50}-Wertes im Vollblut von 30,1 auf 24,1 mmHg.
Obwohl SFH-PLP in vitro einen p_{50} von 29,3 - 33,3 mmHg aufweist, erfolgt in vivo nach dem Blutaustausch ein signifikanter Abfall des p_{50}-Wertes im Vollblut von 30,6 auf 25,2 mmHg. Die O_2-Bindungskurve des Blutes ist damit nahezu genauso ausgeprägt nach links verschoben, wie nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH-Lösung. Dies kann am ehesten durch eine Dissoziation des Pyridoxalphosphat-Hämoglobin-Komplexes erklärt werden.

7. Die mittels Platinmehrdrahtelektrode auf der Oberfläche des M. sartorius gemessene Gewebe-pO_2-Verteilung zeigt, daß die O_2-Versorgung nach dem Blutersatz durch SFH-PLP rasch normalisiert wird und über die gesamte Untersuchungsdauer konstant gut bleibt. Im Gegensatz dazu ist nach dem Blutersatz durch konventionelle SFH-Lösung nur eine sehr langsame Normalisierung der Gewebe-pO_2-Verteilung und bei Versuchsende eine bestenfalls ausreichende O_2-Versorgung des Muskelgewebes festzustellen. In welchem Ausmaß die niedere O_2-Affinität von SFH-PLP für die verbesserte O_2-Versorgung verantwortlich zu machen ist, kann nicht quantifiziert werden, da noch andere, die lokale pO_2-Verteilung beeinflussende Faktoren, z. B. bessere kapilläre Durchströmung und höherer, zellulärer O_2-Verbrauch bei geringerer Narkosetiefe berücksichtigt werden müssen.

8. Durch getrennte Analysen der $AVDO_2$ im Vollblut und im Plasma konnte jedoch gezeigt werden, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen aus SFH-PLP mehr Sauerstoff extrahiert wird als aus konventionellem SFH. Wahrscheinlich auf Grund einer weitgehenden Abspaltung des Pyridoxalphosphats in vivo ist die Extraktionsrate aus SFH-PLP jedoch erheblich niedriger als die aus erythrozytärem Hämoglobin.

Dies ist bereits zu 60 Prozent entsättigt, wenn aus SFH-PLP 20 Prozent und aus konventioneller SFH-Lösung sogar nur 10 Prozent des Sauerstoffs extrahiert werden.

9. Während nach konventioneller SFH-Lösung alle 7 Versuchstiere langfristig überlebten, starben nach dem Blutaustausch gegen SFH-PLP-Lösung 3 Tiere. Als Todesursache wurde in einem Fall eine Aspirationspneumonie nachgewiesen. Bei einem Tier führte eine in ihrer Genese unklare Blutung aus dem Nasenrachenraum ad exitum. Beim 3. vorzeitig verstorbenen Versuchstier konnten Anasarka und ein diffuses Lungenödem verifiziert werden, das als Folge einer extremen Hyponkie und einer terminalen Herzinsuffizienz interpretiert wird.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. AMBERSON, W. R., FLEXNER, J., STEGGARDA, F. S., MULDER, A. G., TENDLER, M. J., PANKRATZ, D. S., LAUG, E. P.
On the use of Ringer-Locke solution containing hemoglobin as a substitute for normal blood in mammals
J. Cell. Comp. Physiol. 5, 359 (1934)

2. AMBERSON, W. R.
Blood substitutes
Biol. Rev. 12, 48 (1937)

3. AMBERSON, W. R., JENNINGS, J.J., RHODE, C. M.
Clinical experience with hemoglobin-saline solutions
J. Appl. Physiol. 1, 469 (1949)

4. BAKER, S. B., DAWES, R. L. F.
Experimental hemoglobinuric nephrosis
J. Pathol. and Bacteriol. 87,49 (1964)

5. BARRAT, J. O. W., YORKE, W.
The production of general symptoms in haemoglobinemia
Brit. Med. J. 1, 235 (1914)

6. BELLINGHAM, A. J., DETTER, J. C., LENFANT, C.
Regulatory mechanisms of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alkalosis
J. Clin. Invest., 50, 700 (1971)

7. BENESCH, R., BENESCH, R. E.
The effect of organic phosphates from the human erythrozyte on the allosteric properties of hemoglobin
Biochem. Biophys. Res. Comm. 26, 162 (1967)

8. BENESCH, R. E., BENESCH, R., Yu, C.
The effect of pyridoxal phosphate on the oxygenation of hemoglobin
Fed. Proc. 28, 604 (1969)

9. BENESCH, R., BENESCH, R. E.
Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by hemoglobin
Nature, 221, 618 (1969)

10. BENESCH, R. E., BENESCH, R., Yu, C. J.
The oxygenation of hemoglobin in the presence of 2,3-diphosphoglycerate.
Effect of temperature, ph, ionic strength and hemoglobin concentration.
Biochemestry 8, 2567 (1969)

11. BENESCH, R. E., BENESCH, R.
The reaction between diphosphoglycerate and hemoglobin
Fed. Proc. 29, 1101 (1970)

12. BENESCH, R. E., BENESCH, R., BANK, A., RENTHAL, R., BRAY, B. A.
The preparation and properties of pyridoxylated hemoglobin.
Genetical, functional and physical studies on hemoglobins
Proc. Ist Inter.-American Symp. on Hemoglobin,
Caracas 1969, pp. 134 - 142
(Karger, Basel-New York 1971)

13. BENESCH, R. E., BENESCH, R., RENTHAL, R. D., MAEDA, N.
Affinity labeling of the polyphosphate binding site of hemoglobin
Biochemistry 11, 3576 (1972)

14. BENESCH, R. E., YUNG, S., SUZUKI, T., BAUER, C., BENESCH, R.
Pyridoxal compounds as specific reagents for the α - and β-N-termini of hemoglobin
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 2595 (1973)

15. BERGENTZ, S. E., CARLSTEN, A., GELIN, L. E., KREBS, J.
Hidden acidosis in experimental shock
Ann. Surg. 169, 227 (1969)

16. BING, R. J.
The effect of hemoglobin and related pigments on renal functions of normal and acidotic dogs
Bull.Johns Hopkins Hosp. 74, 161 (1944)

17. BIRNDORF, N. J., LOPAS, H.
Effects of red cell stroma-free hemoglobin solution on renal function in monkeys
J. Appl. Physiol. 29, 573 (1970)

18. BLÖHMER, A., KARSUNSKY, K. P., METZ, J., TAUGNER, R.
Zum Schicksal, vor allem zur Nierenausscheidung von exogenem Hämoglobin und Myoglobin bei der Ratte
Z. ges. exp. Med. 155, 122 (1971)

19. BRAASCH, D.
Red cell free dogs -
A new method for microcirculatory research
Bibl. Anat. 11, 125 (Karger, Basel 1972)

20. BROWDIE, D., SMITH, H.
Stromafree hemoglobin
Simplified preparation and in vivo and in vitro effects on coagulation in rabbits
Amer. J. Surg. 1929, 365 (1975)

21. BONHARD, K.
Preparation and examination of an infusable hemoglobin solution
In: MARTIN, H. und NOWICKI, L.: Synthesis, structure and function of hemoglobin, p. 285
(Lehmann, München 1972)

22. BONHARD, K.
Experimental results with hemoglobin infusions
In: RAPOPORT, S., JUNG, Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrozyten, p. 221
(Berlin, Akademieverlag 1975)

23. BONHARD, K.
Sauerstoff transportierende Therapeutika aus abgelaufenem Konservenblut. Gewinnung und Anwendung.
Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und Immunhaematologie. Bericht des 17. Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusion und Immunhaematologie vom 26. April 1976 in Frankfurt, 1
(Medicus Verlag, Berlin 1976) , 1

24. BONHARD, K.
Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions
Fed. Proc. 34, 1466 (1975)

25. BONHARD, K.
Storage-stabile hemoglobin solutions and method for their preparation
United States Patent 3, 864, 478 (1975)

26. BRANDT, J. L., FRANK, N. R., LICHTMAN, H. C.
The effects of hemoglobin solutions on renal functions in man
Blood 6, 1152 (1951)

27. BUNN, H. F., ESHAM, W. T., BULL, R. W.
The renal handling of hemoglobin
1. Glomerular filtration
J. Exp. Med. 129, 909 (1969)

28. BUNN, H. F., JANDL, J. H.
The renal handling of hemoglobin
2. Catabolism
J. Exp. Med. 129, 925 (1969)

29. BURCK, H. C., EICHNER, G., SEDLACZEK, T.
Das akute Nierenversagen nach Hämoglobininfusion mit und ohne Erythrozytenstromata am Kaninchen
Res. Exp. Med. 166, 79 (1975)

30. CHIANCONE, E., VECCHINI, P., FORLANI, L., ANTONINI, E., WYMAN, J.
Dissociation from hemoglobin from different animal species into subunits
Biochim. Biophys. Acta 127, 549 (1966)

31. CHANUTIN, A., CURNISH, R. R.
Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes
Arch. Biochim. Biophys. 121, 96 (1967)

32. COCHIN, A., TAPAS, K., DASGUPTA, T. K., DE WOSKIN, R., MOSS, G. S.
Immunogenic properties of stroma versus stromafree hemoglobin solution
Surg. Forum XXIII, 19 (1972)

33. COKELET, G. R., MEISELMAN, H. J.
Rheological comparison of hemoglobin solutions and erythrocyte suspensions
Science 162, 275 (1968)

34. COLLINS, J. A., BRAITBERG, A., BUTCHER, H.
Changes in lung and body weight in rats treated for hemorrhage with varios fluids
Surg. Forum 21, 19 (1970)

35. CHRISTFORIDES, C., HEDLEY-WHYTE, J.
Effect of temperature and hemoglobin concentration on solubility of oxygen in blood
J. Appl. Physiol. 27, 592 (1969)

36. DARLING, R. D., ROUGHTON, F. J. W.
The effect of methemoglobin on the equilibrium between oxygen and hemoglobin
Amer. J. Physiol. 137, 56 (1942)

37. DEGOWIN, E. L., OSTERHAGEN, H. F., ANDERSCH, M.
Renal insufficiency from blood transfusion
I. Relation to urinary acidity
Arch. Int. Med. 59, 432 (1937)

38. DEUTICKE, B., DUHM, J., DIERKESMANN, R.
Maximal elevation of 2,3-diphosphoglycerate concentrations in human erythrocytes: influence on glycolytic metabolism and intracellular pH
Pflügers Arch. 326, 15 (1971)

39. DE VENUTO, F.
Characteristics of stromafree hemoglobin solution prepared by cristallization
J. Lab. Clin. Med. 89 (3), 509 (1977)

40. DIJKHUIZEN, P., BUURSMA, A., FONGERS, T. M. E., GERDING, A. M., OESEBURG, B., ZIJLSTRA, W. G.
The oxygen binding capacity of human hemoglobin
Pflügers Arch. 369, 223 (1977)

41. DODGE, J. T., MITCHELL, C., HANHAN, D. J.
The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes
Arch. Biochem. Biophys. 100, 119 (1963)

42. DUHM, J.
2,3-DPG-induced displacements of the oxyhemoglobin dissociation curve of blood. Mechanisms and consequences
In: BICHER, H. C., BRULEY, D. F.
Advances in experimental medicine and biology, 37 A,
Oxygen transport to tissue, instrumentation, methods and physiology, 179
(Plenum Press New York - London, 1973)

43. DUHM, J.
Effects of 2,3-diphosphoglycerate and other organic phosphate compounds on oxygen affinity and intracellular pH of human erythrocytes
Pflügers Arch. 326, 341 (1971)

44. DUHM, J.
Studies on 2,3-diphosphoglycerate: Effects on hemoglobin, glycolysis and on buffering properties of human erythrocytes.
In: BREWER, G.
Erythrocyte structure and function, Vol. 1,
Progress in clinical and biological research, 167
(Alan R. Liss, Inc., New York, 1975)

45. DUHM, J.
Zwei Komponenten der Wirkung von 2,3-Diphosphoglycerat auf die Sauerstoff-Affinität von Hämoglobin in menschlichen Erythrozyten
Pflügers Arch. 319, R (1970)

46. DUVELLEROY, M. A., BUCKLES, R. G., ROSENKAIMER, S., TUNG, C., LAVER, M. B.
An oxyhemoglobin dissociation analyzer
J. Appl. Physiol. 28, 227 (1970)

47. EATON, J. W., BREWER, G. J.
The relationship between red cell 2,3-DPG and levels of hemoglobin in the human
Proc. Nat. Acad. Sci. 61, 756 (1968)

48. ELIA, C., STERNBERG, H. J., GREENBURG, A. G., PESKIN, G. W.
Stroma-free hemoglobin in the resuscitation of hemorrhagic shock
Surg. Forum 25, 201 (1974)

49. ENDRICH, B., JESCH, F., PETERS, W., MESSMER, K.
Reanimation nach akutem Blutverlust mit stromafreier Hämoglobinlösung
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1979, 53

50. ENDRICH, B.
Die Wirksamkeit stromafreier Hämoglobinlösung nach akutem Blutverlust beim Hund
München, Med. Diss. 1977

51. ERICSSON, J. L. E., MOSTOFI, F. K., LUNDGREN, G.
Experimental hemoglobinuric nephropathy
Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. 3, 181 (1969)

52. FEOLA, M., AZAR, D., SORIANO, R., WIENER, L.
The effect of hemodilution with stroma-free hemoglobin on myocardial tissue oxygenation in experimental myocardial infarction
Clin. Res. 23, 182 A (1975)

53. FISHMAN, A. P.
Pulmonary Edema
The water-exchanging function of the lung
Circulation XLVI, 390 (1972)

54. FRICK, P.
Blut
in: SIEGENTHALER, W. Klinische Pathophysiologie, S. 418
(Georg-Thieme, Stuttgart 1973)

55. FLINK, E. B.
Blood transfusion studies
III. The relationship of hemoglobinemia and of the pH of the urine to renal damage produced by injection of hemoglobin solutions into dogs
J. Lab. Clin. Med. 32, 223 (1947)

56. FÖRSTER, H., HOSS, J.
Stoffwechseluntersuchungen bei Verwendung von stromafreier Hämoglobinlösung als Sauerstoffträger
Infusionstherapie 1, 455 (1973/1974)

57. FÖRSTER, H., HOOS, J., SCHNEIDER, M., HAUK, H.
Zur Verwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen als Blutersatz
Infusionstherapie 4, 122 (1977)

58. FURLAN, M., BACHOFEN, H.
Auto-oxidation of hemoglobin in plasma
Experientia 32, 113 (1976)

59. GOLDBERG, M.
Studies of acute renal effects of hemolyzed red blood cells in dogs including estimations of renal blood flow with krypton ^{85}
J. Clin. Invest. 41, 2112 (1962)

60. GREENBURG, A. G., ELIA, Ch., LEVINE, B., BELSHA, J., PESKIN, G. W.
Hemoglobin solution and the oxyhemoglobin dissociation curve
J. of Trauma 15, 943 (1975)

61. GREENBURG, A. G., SCHOOLEY, M., PESKIN, G. W.
Improved retention of stromafree hemoglobin solution by chemical modification
J. of Trauma 17, 501 (1977)

62. GREENBURG, A. G., PEARL, J., BELSHA, J., PESKIN, G. W.
An improved stroma-free hemoglobin solution
Surg. Forum 26, 53 (1975)

63. GROHMANN, W.
Hämodilution mit Hämoglobinlösung
München, Med. Diss. 1977

64. GRUBER, U. F.
Blutersatz
(Springer Berlin-Heidelberg-New York, 1968)

65. GUIDOTTI, G.
Studies on the chemistry of hemoglobin.
II. The effect of salts on the dissociation of hemoglobin from different animales into subunits
J. Bio. Chem. 242, 3685 (1967)

66. GUYTON, A. C., RICHARDSON, T. Q.
Effect of hematocrit on venous return
Circ. Res. 9, 157 (1961)

67. HAMILTON, P. B., FARR, L. E., HILLER, A., VAN SLYKE, D. D.
Preparation of hemoglobin solution for intravenous infusion
J. Exper. Med. 84, 455 (1947)

68. HAMILTON, A. S., PARKINS, W. M., WALTHER, F.
A Comparison of ten infusion fluids in the treatment of moderate and severe hemorrhage in animals
Amer. J. Physiol. 150, 641 (1947)

69. HAMILTON, P. B., HILLER, A., VAN SLYKE, D. D.
Renal effects of hemoglobin solutions in dogs in hemorrhagic shock
J. Exper. Med. 85, 477 (1948)

70. HARDAWAY, R. M.
Microcoagulation in shock
Am. J. Surg. 110, 298 (1965/1966)

71. HARKEN, A. H., WOODS, M.
The influence of oxyhemoglobin affinity on tissue oxygen consumption
Ann. Surg. 183,130 (1976)

72. HARRISON, H. E., BUNTING, H., ORDWAY, N. K., ALBRINK, W. S.
The pathogenesis of the renal injury produced in the dog by hemoglobin or methemoglobin
J. Exp. Med. 86, 339 (1947)

73. HAYNES, F. W.
Further observations on the rapidity of passage of substances from blood to lymph in the dog
Amer. J. Physiol. 101, 232 (1932)

74. HERRMANN, R., LÖBELENZ, J. TH.
Untersuchungen zur Wirkung einer stromafreien Hämoglobinlösung im hämorrhagischen Schock.
Heidelberg, Med. Diss. 1973

75. HOLDEFER, W. F., DOWLING, E. A.
Heterologous stroma-free hemoglobin as a whole blood substitute: Experimental use
Surg. Forum XXIV, 18 (1973)

76. IMAI, K., YONETANI, T.
The hemoglobin-oxygen equilibrium associated with subunit dissociation
I. An approach with the Hill scheme
Biochim. Biophys. Acta 490, 164 (1977)

77. JAENICKE, J. R., SCHNEEBERGER, E. E.
The renal lesions associated with hemoglobinemia.
II. Its structural characteristics in the rat
J. Exp. Med. 123, 537 (1966)

78. JESCH, F., WEBBER, L. M., DALTON, J. W., CAREY, J. S.
The oxygen-affinity of hemoglobin:
Influence of blood replacement and hemodilution after cardiac surgery
Adv. Exp. Med. Biol. 37 A, 193 (1973)

79. JESCH, F., WEBBER, L. M., DALTON, J. W., CAREY, J. S.
Oxygen dissociation after transfusion of blood in ACD or CPD solution
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 70, 35 (1975)

80. JESCH, F., HOBBHAHN, J., PETERS, W., MESSMER, K.
Oxygen delivery from stromafree hemoglobin (SFH) after severe blood loss
Europ. Surg. Res. 8, Suppl. 1, 33 (1976)

81. JESCH, F., HOBBHAHN, J., ENDRICH, B., PETERS, W., MESSMER, K.
Improved in vivo oxygen delivery from stromafree hemoglobin by pyridoxylation
Pflügers Arch. Europ. J. Physiol. 362, Suppl R 16 (1976)

82. JESCH, F.,
Unveröffentlichte Ergebnisse

83. JESCH, F., ENDRICH, B., MESSMER, K.
Oxygen transport and hemodynamics of stromafree hemoglobin solutions
In: GROTE, J., RENEAU, D., THEWS, G.
Oxygen transport to tissue - II, p. 105 (1976)
(Plenum Publishing Corporation, New York)

84. JESCH, F., ENDRICH, B., MESSMER, K.
Oxygen transport and hemodynamics of stromafree hemoglobin solutions
Adv. Exp. Med. Biol. 75, 105 (1976)

85. JESCH, F., ENDRICH, B,. PFEIFFER, R., MESSMER, K.
Resuscitation from acute blood loss with use of stromafree hemoglobin solution
Eur. Surg. Res. 8, Suppl. 2, 168 (1976)

86. JESCH, F., SCHAFF, J., PETERS, W., MESSMER, K.
Pyridoxylated stroma-free hemoglobin: Hemodynamics and oxygen supply after severe blood loss
Intensive Care Med. 3, (1977)

87. KALESNIKOV, J. S., BALLJUSEK, F. V., SHANIN, J. N., KOSTUCHENKO, A. L., MALAKHOV, S. F.
An experience with the use of the hemoglobin containing preparation Erigem as a blood substitutor
Vestn. Khir. 108, 5, 95 (1972)

88. KAPLAN, H. R., MURTHY, V. S.
Hemoglobin solution: a potentional oxygen transporting plasma volume expander
Fed. Proc. 34, 1461 (1975)

89. KESSLER, M., LÜBBERS, D. W.
Aufbau und Anwendungsmöglichkeiten verschiedener pO_2-Elektroden
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 291, R 82 (1966)

90. KESSLER. M., GRUNEWALD, W.
Possibilities of measuring oxygen pressure fields in tissue by multiwire platinum electrodes
Progr. Resp. Res. 3, 147 (1969)

91. KESSLER, M., GOERNANDT, L., LANG, H.
Correlation between oxygen tension in tissue and hemoglobin dissociation curve
In: KESSLER, M., BRULEY, D. F., CLARK, L. C., LUEBBERS, D. W., SILVER, J. A., STRAUSS, J.
Oxygen supply, theoretical and practical aspects of oxygen supply and microcirculation of tissue, p. 156
(München, Berlin: Urban und Schwarzenberg, 1972)

92. KESSLER, M., HÖPER, J., SCHÄFER, D., STARLINGER, H.
Sauerstofftransport im Gewebe
In: AHNEFELD, F. W., BURRI, C., DICK, W., HALMAGY, M.
Mikrozirkulation
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie Band 5, S. 36
(Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1974)

93. KESSLER, M.
Oxygen supply to tissue in Normoxia and in oxygen deficiency
Microvasc. Res. 8, 283 (1974)

94. KRAYENBÜHL, H.
Die Dynamik und Kontraktilität des linken Ventrikels
Basel - New York, Karger, 1969

95. KUNZE, K.
Die lokale kontinuierliche Sauerstoffdruckmessung in der menschlichen Muskulatur
Pflügers Arch. Ges. Physiol. 292, 151 (1966)

96. KUNZE, K.
Significance of oxygen pressure field measurements in human muscle with special remarks on pO_2 microneedle electrodes
Progr. Resp. Res. 3, 153 (1969)

97. LABRUDE, P., VIGNERON, C., STREIFF, F.
La solution d'hemoglobine comme transporteur d'oxygène. Etude de quelques propriétés physico-chimiques et pharmacologiques
Agressologie 17, 49 (1976)

98. LABRUDE, P., VIGNERON, C., STREIFF, F.
Urinary changes after administration of a hemoglobin solution in rabbits and mice.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 168, 1220 (1974)

99. LATHEM, W., DAVIS, B. B., ZWEIG, P. H., DEW, R.
The demonstration and localization of renal tubular reabsorption of hemoglobin by stop flow analysis.
J. Clin. Invest. 39, 840 (1960)

100. LECOMPTE, F., SINET, M., AZOULAY, E., MUFFAT-JOLY, M., POCODALO, J. J.
Oxygen transport by hemoglobin. A comparison of whole blood, washed erythrocytes and hemoglobin solution
Biomedicine (Express) 23, 226 (1975)

101. LOISANCE, D., TEISSEIRE, B., O'BYRNE, P.
Une nouvelle solution d'hemoglobine vers un substitut idéal du sang
La Nouvelle Presse Médicale 5, 585 (1976)

102. LUNDSGAARD-HANSEN, P., PAPPOVA, E.
Respiratorische Insuffizienz, kolloidosmotischer Druck und Albumintherapie
Infusionsther. 1, 624 (1974)

103. LÜBBERS, D. W.
Local tissue pO_2: its measurement and meaning
In: KESSLER, M., BRULEY, D. F., CLARK, L. C., LÜBBERS, D. W., SILVER, J. A., STRAUSS, J.
Oxygen supply, theoretical and practical aspects of oxygen supply and microcirculation of tissue p. 151
(München, Berlin: Urban und Schwarzenberg, 1972)

104. LÜBBERS, D. W.
Die Bedeutung des lokalen Gewebesauerstoffdruckes und des pO_2-Histogramms für die Beurteilung der Sauerstoffversorgung eines Organs
Prakt. Anästh.12, 184 (1977)

105. LUTERMAN, A., CANIZARO, P. C., CARRICO, C. J., HOROVITZ, J. H., GLOVER, W.
Improvement of oxygen-carrying properties of stromafree hemoglobin solution with acetrizoate sodium
Surg. Forum 27, 62 (1976)

106. MCCONN, R., DERRICK, J. B.
The respiratory function of blood: transfusion and storage
Anesthesiology 36, 119 (1972)

107. MCKAY, D. G., HARDAWAY, R. M., WHALE, G. H., EDELSTEIN, R., TURTOCK, D.
Alterations in blood coagulation mechanism after incompatible blood transfusion
Am. J. Surg. 89, 583 (1955)

108. MANSOURI, A., WINTERTHALER, K.
Nonequivalence of chains in hemoglobin oxidation and oxygen binding. Effect of organic phosphates
Biochem. 13, 3311 (1974)

109. MCLEAN, J. G., LEWIS, I. M.
Oxygen affinity responses to 2,3-DPG, and methemoglobin formation in horse and human hemoglobins
Res. Vet. Sci. 19, 259 (1975)

110. MESSMER, K., BRENDEL, W., HOLPER, K., SUNDER-PLASSMANN, L.
Extreme Blutverdünnung durch Volumensubstitution
Anästh. und Wiederbelebung 30, 55 (1969)

111. MESSMER, K.
Die Grundlagen der modernen Schocktherapie
Münch. Med. Wschr. 112, 357 (1970)

112. MESSMER, K., SEIFERT, J.
Fehlerquellen bei der Blutvolumenbestimmung im Schock
In: ZIMMERMANN, W. E., STAIB, I.
Schock, Stoffwechselveränderungen und Therapie, S. 45
(F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1970)

113. MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P., HOLPER, K.
Circulatory significance of hemodilution
Rheological changes and limitations
Adv. Microcirc. 4, 1 (1972)

114. MESSMER, K., LEWIS, D. H., SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. R., MENDLER, N., HOLPER, K.
Acute normovolemic hemodilution:
Changes of central hemodynamics and microcirculatory flow in skeletal muscle
Europ. Surg. Res. 4, 55 (1972)

115. MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E., KESSLER, M.
Oxygen supply to the tissues during limited normovolemic hemodilution
Res. Exp. Med. 159, 152 (1973)

116. MESSMER, K., GÖRNANDT, L., FESCH, F., SINAGOWITZ, E., SUNDER-PLASSMANN, L., KESSLER, M.
Oxygen transport and tissue oxygenation during hemodilution with Dextran
Adv. Exp. Med. Biol. 37 b, 669 (1973)

117. MESSMER, K., GÖRNANDT, L., SINAGOWITZ, E., SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., KESSLER, M.
Local oxygen tension in tissue of different organs during limited normovolemic hemodilution
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, Part II.
Bibl. Anat. 12, 327 (Karger, Basel 1973)

118. MESSMER, K.
Die Sauerstoffversorgung bei Blutersatz durch Kolloidlösungen
Infusionsther. Sonderheft 1, 15 (1973)

119. MESSMER, K.
Pathophysiologische Aspekte und Probleme des Schocks
Triangel 13, 3 (1974)

120. MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L.
Hemodilution
Progr. Surg. 13, 208
(Karger, Basel 1974)

121. MESSMER, K.
Hämodynamik des Schocks
Langenbecks Arch. Chir. 337, 157
(Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)

122. MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L., KESSLER, M.
Beeinflußung der Mikrozirkulation durch Hämodilution
In: AHNEFELD, F. W., BURRI, C., DICK, D., HALMAGY, M.
Mikrozirkulation
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie Band 5, S. 127
(Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)

123. MESSMER, K., SUNDER-PLASSMANN, L.
Schock
In: LINDENSCHMIDT, Th. O. (Hrsg)
Pathophysiologische Grundlagen der Chirurgie, S. 159
(Thieme, Stuttgart 1975)

124. MESSMER, K., JESCH, F., HOBBHAHN, J., PETERS, W.
Stromafree Hemoglobin Solution (SFH)
7th Round Table Symposium on Applied Immunology, Kitzbühel, 1976
Europ. Surg. Res., 8, 267 (1976)

125. MESSMER, K., KRUMME, B. A., KESSLER, M.
Oxygen transport in shock
Microcirc. 2, 133 (1976)
(Plenum Publishing Corporation, New York)

126. MESSMER, K., JESCH, F., ENDRICH, B., PETERS, W.
Oxygen supply by stromafree hemoglobin (SFH)
Fed. Proc. 35, 526 (1976)

127. MESSMER, K., JESCH, F.
Stromafreie Hämoglobinlösung - ein Blutersatzmittel ?
Forschungsergebnisse der Transfusionsmedizin und Immunhämatologie 3, 537 (1976)
(Medicus Verlag, Berlin)

128. MILLER, J. H., MCDONALD, R. K.
The effect of hemoglobin on renal function in the human
J. Clin. Invest. 30, 1033 (1951)

129. MOK, W., CHEN, D. E., MAZUR, A.
Cross-linked hemoglobins as potential plasma protein extenders
Fed. Proc. 34, 1458 (1975)

130. MOSS, G. S., DE WOSKIN, R., COCHIN, A.
Stroma-free hemoglobin
I. Preparations and observations on in vitro changes in coagulation.
Surgery 74, 198 (1973)

131. MOSS, G. S., DE WOSKIN, R., ROSEN, A. L., LEVINE, H., PALANI, C. K.
Transport of oxygen and carbondioxide by hemoglobin-saline solution in the red cell-free primate
Surg. Gynecol. Obstet. 142, 357 (1976)

132. MURPHY, J. R., WENGERD, M., KELLERMEYER, R. W.
Erythrocyte O_2-affinity: influence of cell density and in vitro changes in hemoglobin concentration
J. Lab. Clin. Med., 84, 218 (1974)

133. MURRAY, R. K., CONNELL, G. E., PERT, J. H.
The role of haptoglobin in the clearance and distribution of extracorpuscular hemoglobin
Blood 17, 45 (1961)

134. NAGEL, R. L., GIBSON, Q. H.
The binding of hemoglobin to haptoglobin and its relation to subunit dissociation of hemoglobin
J. Biol. Chem. 246, 69 (1971)

135. Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Counc.
Criteria of satisfactory plasma volume expanders
Washington, D. C. 1963

136. O'SHAUGNESSY, L., MANSELL, H. E., SLOME, D.
Hemoglobin solution as a blood substitute
Lancet 2, 1068 (1939)

137. PALANI, C. K., DE WOSKIN, R., MICHUDA, M, ROSEN, L. A., MOSS, G. S.
In vivo oxygen transport with stromafree hemoglobin solution in primates
Surg. Forum 25, 199 (1974)

138. PALANI, C. K., DE WOSKIN, R., MOSS, G. S.
Scope and limitations of stroma-free hemoglobin solution as an oxygen-carrying blood substitute
Surg. Clin. North Amer. 55, 33 (1975)

139. PENNEL, R. B., SMITH, W. E.
Preparation of stabilized solutions of hemoglobin
Blood 4, 380 (1949)

140. PESKIN, G. W., O'BRIEN, K., RABINER, S. F.
Stromafree hemoglobin solution: The ideal blood substitute?
Surgery 66, 185 (1969)

141. PIELSTICKER, K.
Persönliche Mitteilung

142. QUICK, A. J., GEORGATSOS, G. J., HUSSEY, C. V.
The clotting activity of human erythrocytes: theoretical and clinical implications
Am. J. Med. Sci. 228, 207 (1954)

143. RABINER, S. F., ROSENFELD, S.
Role of intravascular hemolysis and the reticulo-endothelial system in the production of hypercoagulable state
J. Lab. Clin. Med. 62, 1005 (1963)

144. RABINER, S. F., HELBERT, J. R., LOPAS, H., FRIEDMAN, L. H.
Evaluation of a stromafree hemoglobin solution for use as a plasmaexpander
J. Exp. Med. 126, 1127 (1967)

145. RABINER, S. F., O'BRIEN, K., PESKIN, G. W., FRIEDMAN, L. H.
Further studies with stromafree hemoglobin solution
Ann. Surg. 171, 615 (1970)

146. RABINER, S. F.
Hemoglobin solution as a plasma expander
Fed. Proc. 34, 1454 (1975)

147. RELIHAN, M., LITWIN, M. S.
Effects of stromafree hemoglobin solution on clearance rate and renal function
Surgery 71, 395 (1972)

148. RELIHAN, M., OLSEN, R. E., LITWIN, S. T.
Clearance rate and effect on renal function of stromafree hemoglobin following renal ischemia
Ann. Surg. 176, 700 (1972)

149. RELIHAN, M., LITWIN, M. S.
Clearance rate and renal effects of stroma-free hemoglobin in acidotic dogs
Surg. Gynec. Obstet. 137, 73 (1973)

150. RIGGS, T. E., SHAFER, A. W., GUENTER, C. A.
Acute changes in oxyhemoglobin affinity
J. Clin. Invest. 52, 2660 (1973)

151. RING, J., MESSMER, K.
Infusionstherapie mit kolloidalen Volumenersatzmitteln
Anaesthesist 26, 279 (1977)

152. ROSENBERG, C. J.
Perspectives on the problem of blood substitutes
Bibl. Haematol. No 38, part II, p. 737
(Karger, Basel 1971)

153. RUDOWSKI, W., SCHIER, J., DASZYNSKI, J., KOSTRZEWSKA, E.
Administration of stromafree hemoglobin solution
Haematologia 6, 409 (1972)

154. RUDOWSKI, W., SCHIER, J., DASZINSKI , J., KOSTRZEWSKA, E.
Ricerche sperimentali sulla possibilita d'impiego della soluzione di emoglobina priva di stroma
Minerva Med. 64, 2, 447 (1973)

155. RUTISHAUSER, W., KRAYENBÜHL, H. P., WIRZ, P., LÜTHY, E.
Herz
In: SIEGENTHALER, W.
Klinische Pathophysiologie, 480
(Thieme, Stuttgart 1973)

156. SUNDER-PLASSMANN, L.
Extreme Hämodilution mit Gelatinelösungen
Grenzen und Adaptationsmechanismen
München, Med. Diss. 1970

157. SUNDER-PLASSMANN, L., JESCH, F., SEIFERT, J., GROHMANN, W., MESSMER, K.
The hemodynamic and hemorheological effects of a stromafree hemoglobin solution
7th Europ. Conf. Microcirculation, Aberdeen 1972, I.
Bibl. Anat. 11, 104
(Karger, Basel 1973)

158. SUNDER-PLASSMANN, L., PFEIFFER, R., JESCH, F., MESSMER, K.
Sauerstofftransport und Hämodynamik nach Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1973, 329

159. SUNDER-PLASSMANN, L., SINAGOWITZ, L., RINK, R., DIETERLE, R., MESSMER, K., KESSLER, M.
The local oxygen supply in tissue of abdominal viscera and of skeletal muscle in extreme hemodilution with stromafree hemoglobin solution
In: BICHER, H. J., BRULEY, D. F.,
Oxygen Transport to Tissue
Advanc. Exp. Med. Biol. 37 A, 395 (1973)

160. SUNDER-PLASSMANN, L., SINAGOWITZ, E., DIETERLE, R., RINK, R., KLÖVEKORN, W. P., KESSLER, M., SEIFERT, J., MESSMER, K.
Blood replacement with stromafree hemoglobin solution
Europ. Surg. Res. Suppl. 2, 46 (1973)

161. SUNDER-PLASSMANN, L., DIETERLE, R., SINAGOWITZ, E., KESSLER, M., MESSMER, K.
Stromafree hemoglobin solution as blood replacement fluid: Effects on regional tissue pO_2 of different organs
Europ. Surg. Res. 5, Suppl. 1, 83 (1973)

162. SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P., MESSMER, K., BRENDEL, W.
Veränderungen der Hämodynamik und Fließeigenschaften des Blutes bei Anwendung künstlicher Kolloide
In: AHNEFELD, F. W., BURRI, C., HALMAGY, M.
Akute Volumen- und Substitutionstherapie mit Blut, Blutbestandteilen und Elektrolyten, S. 139
(J. F. Lehamanns Verlag, München 1973)

163. SUNDER-PLASSMANN, L., MESSMER, K.
Funktionelle Veränderungen der Mikrozirkulation im Schock
In: AHNEFELD, F. W., BURRI, C., DICK, D., HALMAGY, M.
Mikrozirkulation
Klinische Anästhesiologie und Intensivtherapie Band 5, S. 127
(Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974)

164. SUNDER-PLASSMANN, L., DIETERLE, R., SEIFERT, J., JESCH, F., MESSMER, K.
Stromafree hemoglobin solution as a blood replacement fluid. Actual state and problems
Europ. J. Intens. Care Med. 1, 37 (1975)

165. SWAN, H. J. C., GANZ, W.
Use of ballon flotation catheters in critically ill patients
Surg. Clin. North. Amer. 55, 501 (1975)

166. SCHIER, J., JASTRZEWSKI, J., RUDOWSKI, W., DASZYNSKI, J., KOSTRZEWSKA, E.
Effect of stromafree hemoglobin solution on respiration and blood oxygenation
Haematologia 7, 339 (1973)

167. SCHIER, J., GREGOR, A., RUDOWSKI, W., DASZYNSKI, J.
Effect of stromafree hemoglobin solution on d-xylose absorption from the small intestine
J. Int. Med. Res. 3, 363 (1975)

168. SCHIER, J., KLUCINSKI, W., SITARSKA, E., RUDOWSKI, J., DASZYNSKI, J., MOSCICKA, M.
Oxygen consumption by hepatic tissue after transfusion of a stromafree hemoglobin solution
Z. Exper. Chirurg. Berlin 9, 120 (1976)

169. SCHIER, J., GORALSKI, S., CHELCZYNSKI, L., RUDOWSKI, W., DASZYNSKI, J.
Stromafree hemoglobin solution (SFHS) as perfusate for normothermic extracorporal renal perfusion in dog
Europ. Surg. Res. 9, Suppl. 1, 115 (1977)

170. SCHMIDT-NIELSEN, K., TAYLOR, C. R.
Red blood cells: why or why not?
Science 162, 274 (1968)

171. SCHNEIDER, M., HANK, H., FÖRSTER, H., HÜBNER, K.
Tierexperimentelle morphologische Untersuchungen über die Auswirkungen stromafreier Lösungen einfachen und polymerisierten Hämoglobins auf Leber und Niere
Verh. Dtsch. Ges. Path. 60, 194 (1976)

172. SCHÖNLEBEN, K., KRUMME, B. A., BÜNTE, H., KESSLER, M.
Kontrolle der Intensivbehandlung durch Messung von Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung
Langenbecks Arch. Suppl. Chir. Forum 1976, S. 72

173. SCHUBERT, G. E., HAUPT, A. S., KNEISSLER, U.
Morphologische und funktionelle Untersuchungen zum Hämoglobin-abbau in ischämisch geschädigten Tubulusepithelien der Nieren.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 60, 199 (1976)

174. SEIFERT, J., MESSMER, K.
Factors influencing the ^{51}Cr-labelling of erythrocytes
Europ. Surg. Res. 2, 321 (1970)

175. SEIFERT, J., JESCH, F., KLÖVEKORN, W. P., MESSMER, K.
Die Blutvolumenbestimmung beim Hund im hämorrhagischen Schock
Res. Exp. Med. 157, 269 (1972)

176. SEIFERT, J., SUNDER-PLASSMANN, L., KLÖVEKORN, W. P., MESSMER, K.
Blood volume in dogs hemodiluted with dextran, gelatine or stromafree hemoglobin solution
Intern. Res. Commun. System 1, 11-16-2 (1973)

177. SHAPPELL, S. D., LENFANT, C. J. M.
Adaptive, genetic and iatrogenic alterations of the oxyhemoglobin dissociation curve
Anesthesiology 37, 127 (1971)

178. SHELDON, G. F., HOLCRAFT, J., HEPPENSTALL, R. B., FUCHS, R., HUNT, T.
Massive Transfusion: A metabolic and hemodynamic lesion
Surg. Forum 24, 17 (1973)

179. SIEGLE, M.
Verhalten der Blutviskosität bei experimenteller Hämodilution, Hämokonzentration und im hämorrhagischen Schock.
München, Med. Diss. 1973

180. SIMMENDINGER, H. J., HERRMANN, R., LÖBELENZ, L., RÜCKER, U.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkung einer stromafreien Hämoglobinlösung im hämorrhagischen Schock
Jahrestagung der DGAW 1972, Hamburg

181. SIGGAARD-ANDERSEN, O., ENGEL, K.
A new acid-base nomogramm
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 177 (1960)

182. SINAGOWITZ, E., RAHMER, H., RINK, R., GÖRNANDT, L., KESSLER, M.
Local oxygen supply in intraabdominal organs and skeletal muscle during hemorrhagic shock
In: BICHER, H. J., BRULEY, D. H.
Oxygen transport to tissue
Adv. Exp. Med. Biol. 37 A, 505 (1973)

183. SINAGOWITZ, E., RAHMER, H., RINK, R., KESSLER, M.
Die Sauerstoffversorgung von Leber, Pankreas, Duodenum, Niere und Muskel während des hämorrhagischen Schocks
Langenbecks Arch. Chir. Forum 1976, 301

184. SINET, M., MUFFAT-JOLY, M., POCIDALO, J. J.
The hemoglobin oxygen affinity dependence on hemoglobin concentration: study of a specific effect
Biomedicine 25, 358 (1976)

185. SZTUKA, J. C., BLESER, F., GAILLARD, S., BENICHOUX, R.
Etude expérimentale d'une solution d'hémoglobin comme substitut du sang
Anesth. Anal. Réan. 33, 231 (1976)

186. UNSELD, H.
Einfluß einer stromafreien Hämoglobinlösung auf den Kreislauf und die Nierenfunktion im hämorrhagischen Schock
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chirurg. Forum 1972, 403

187. UNSELD, H., BREZGER, F., SCHORER, R.
Vor- und Nachteile der stromafreien Hämoglobinlösung beim hämorrhagischen Schock: Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen im Vergleich mit Albumin und Blutretransfusion
Anaesthesiologie und Wiederbelebung 94, 256 (1975)

188. UNSELD, J. M.
Blutersatz durch stromafreie Hämoglobinlösung
Anaesthesiologie und Wiederbelebung 85, (1974)

189. USAMI, S., CHIEN, S., GREGERSEN, M. L.
Hemoglobin solution as a plasma expander:
effects on blood viscosity
Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 136, 1232 (1971)

190. USZYNSKI, L., SCHIER, J., RUDOWSKI, W., DASZYNSKI, J.
Effects of stroma-free haemoglobin solution on the blood-clotting
system in dogs
Eur. Surg. Res. 8., 204 (1976)

191. VELIKINA, M. M., KLEMENT, A. A.
Hemoglobin-containing preparation "Erigem", its properties and
use in clinical practice
Proc. 12th Congr. Int. Soc. Blood Transf., Moscow 1969
Bibl. Haematol. No. 38, part II, 821
(Karger, Basel 1971)

Herrn Professor Dr. W. Brendel danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für Chirurgische Forschung.

Besonders danken möchte ich Herrn Professor Dr. K. Messmer, der mich bei der Durchführung und Ausarbeitung der Versuche durch Hinweise und konstruktive Kritik unterstützt hat.

Herrn Dr. F. Jesch sei für die Einführung in das tierexperimentelle Arbeiten herzlich gedankt.

Für die histologischen Untersuchungen und Befunde sei Herrn Priv. Doz. Dr. K. Pielsticker besonders gedankt.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen, Fräulein R. Pfeiffer, Fräulein K. Reiter, Fräulein R. Meisel und Fräulein A. Holzer danke ich für die Mithilfe bei der Durchführung der Versuche und die Anfertigung der Abbildungen.

LEBENSLAUF

Am 1. Juni 1949 wurde ich als Sohn des selbstständigen Kaufmanns Max Hobbhahn und seiner Ehefrau Liesbeth, geborene Bernicke, in Stuttart geboren.
Ab 1956 besuchte ich die Volksschulen Gröbenzell und Icking, anschließend das Neusprachliche Gymnasium Icking, an welchem ich 1969 das Abitur ablegte.
Bis Ende 1970 leistete ich meinen Zivildienst im Collegium Augustinum und dem Schwabinger Krankenhaus ab.
Mein Medizinstudium begann ich im WS 1970/71 an der Ludwig-Maximilians-Universität München, wo ich nach dem SS 1973 die ärztliche Vorprüfung bestand. Während des klinischen Studiums erfolgten Famulaturen im Städtischen Krankenhaus Pappenheimstraße und der Chirurgischen Universitätsklinik Nußbaumstraße.
Seit 7. November 1975 bin ich mit meiner Frau Monika Hobbhahn, geborene Sprenger, verheiratet. Unsere Tochter Nina Hobbhahn wurde am 25. 7. 1978 geboren.
Das Staatsexamen beendete ich im Juni 1977 und war seither im Kreis-krankenhaus Wolfratshausen auf der chirurgischen Abteilung und im Kreis-krankenhaus Starnberg als Medizinalassistent und Assistenzarzt auf der internen Abteilung tätig.